

Aus der Städt. Klinik für Chronisch- und Alterskranke,
Berlin—Charlottenburg
Dirigierender Arzt: Prof. Dr. med. Ingeborg Falck

**Über den Einfluß der mononucleären Phagocyten
(freie Makrophagen) auf die lokale Überempfindlichkeitsreaktion
vom Spättyp, untersucht am Modell der Tuberkulinreaktion**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Heinz-Peter Rohr
aus Thyrow, Kreis Zossen

1973

Aus der Städt. Klinik für Chronisch- und Alterskranke,
Berlin—Charlottenburg

Dirigierender Arzt: Prof. Dr. med. Ingeborg Falck

**Über den Einfluß der mononucleären Phagocyten
(freie Makrophagen) auf die lokale Überempfindlichkeitsreaktion
vom Spättyp, untersucht am Modell der Tuberkulinreaktion**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Heinz-Peter Rohr

aus Thyrow, Kreis Zossen

Referent : Prof. Dr. Ingeborg Falck

Correferent: Professor Dr. Alexander

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 22. Oktober 1973



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	5
1.1 Einleitende Bemerkungen	5
1.2 Ursprung, Morphologie und Funktion der mononucleären Phagocyten	7
1.3 Die cutane Überempfindlichkeits- reaktion vom Spättyp als Mani- festation der zellulären Immunant- wort	15
1.3.1 Definitionen	15
1.3.2 Identität, Ursprung und Eigen- schaften der Immunzellen, die für den Vollzug der zellulären Immun- antwort verantwortlich sind	16
1.3.3 Zum Produktionsprozeß der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten	17
1.3.3.1 Identität, Ursprung und Eigenschaften der immunkompetenten kleinen Lympho- cyten (T-Lymphocyten), aus denen die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten hervorgehen	17
1.3.3.2 Wie wird ein immunkompetenter klei- ner T-Lymphocyt durch ein Antigen stimuliert?	18
1.3.3.3 An welchem Ort wird ein immunkom- petenter kleiner T-Lymphocyt durch ein Antigen stimuliert?	19
1.4 Die Tuberkulinreaktion als cutane Überempfindlichkeit vom spättyp	23
1.5 Der Mechanismus der zellulären Immunantwort — Bisher vorliegende Ergebnisse	28

	Seite
1.6 Welchen Einfluß haben die mono-nucleären Phagocyten auf das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus?	52
2 Material und Methoden	60
3 Ergebnisse	71
4 Diskussion	119
5 Zusammenfassung	153
Literaturverzeichnis	154

1. Einleitung

1.1 Einleitende Bemerkungen

Als "mononucleäre Phagocyten" (LANGEVOORT u.a., 1969), "klassische oder freie Makrophagen" (professional macrophages; HIRSCH, 1969) werden ortsbewegliche Zellen des Vertebratenorganismus bezeichnet, die sich neben gewissen cytochemischen Eigenschaften durch folgende Charakteristika auszeichnen:

1. Die Befähigung zur intensiven Phagocytose und Pinocytose.
2. Die Eigenschaft, sich auf Glasflächen auszubreiten und fest an ihnen zu haften. (HIRSCH, 1969)
3. Eine besondere Art von Bewegungen der Zelloberfläche, die mit Hilfe der Phasenkontrastmikroskopie an lebenden Makrophagen beobachtet wird. (HIRSCH, 1969)

Nach der herkömmlichen Nomenklatur handelt es sich, je nach Lokalisation dieser Zellen, um Monocyten, Histiocyten, Makrophagen, v. KUPFFERSche Sternzellen der Leber und Epitheloidzellen. (HIRSCH, 1969; SPECTOR und RYAN, 1969; COTTIER et al, 1970) Hinsichtlich ihres Ursprungs und ihrer Funktion stellen sie eine einheitliche Zellart dar. (LANGEVOORT et al, 1969)

Die mononucleären Phagocyten gehören zum "Reticuloendothelialen System" (RES, ASCHOFF, 1924). Unter dieser Bezeichnung faßte ASCHOFF die Reticulumzellen und die Reticuloendothelien (reticulogene Uferzellen, Sinuswandzellen) der Milz, der Lymphknoten und des Knochenmarkes, die von Kupfferschen Sternzellen der Leber sowie die Histiocyten (Makrophagen) und die Monocyten zusammen, da sie sich in Bezug auf Phagocytose und Pinocytose ähnlich verhalten.

Die Morphologie der mononucleären Phagocyten variiert

stark. Sie hängt von der Species, der Gewebelokalisation und dem Grad der Entwicklung oder Stimulation dieser Zellen ab. (HIRSCH und FEDORKO, 1969; DAEMS und BREDEROO, 1969)

1.2 Ursprung, Morphologie und Funktion der mononucleären Phagocyten

Zellkinetische Studien mit tritiummarkiertem Thymidin, das in die neu synthetisierte DNS sich teilender Zellen eingebaut wird, sowie cytochemische Untersuchungen und Bestrahlungsexperimente haben entscheidend zur Klärung des Ursprungs, des Verhaltens und der funktionellen Eigenschaften der mononucleären Phagocyten beigetragen.

Lange Zeit herrschte die Ansicht, daß es sich bei den freien Makrophagen um aus dem geweblichen Verband gelöste Reticulumzellen und Reticuloendothelien handle. (BARGMANN, 1967) ASCHOFF (1924) leitete die freien Makrophagen (Histiocyten) von den Reticuloendothelien ab. Wenn auch die reticuläre Abstammung eines geringen Teiles dieser Zellen weiterhin zur Diskussion steht (GÜNTHER, 1971), obwohl kürzlich vorgenommene zellkinetische Untersuchungen an reticulärem Gewebe keinen Anhaltspunkt in dieser Richtung erbracht haben (COTTIER et al, 1964; ROOS et al, 1965, 1967; EVERETT und TYLER, 1967; FLIEDNER et al, 1968; SPECTOR und RYAN, 1969), so konnte doch einwandfrei bewiesen werden, daß sich die Stammzellen der freien Makrophagen im Knochenmark befinden. (FISCHER und SCHMALZL, 1964; VOLKMAN und GOWANS, 1965a, 1965 b; LEDER, 1966, 1967, 1968; v. FURTH und COHN, 1968; SPECTOR und WILLOUGHBY, 1968; BRAUNSTEINER und SCHMALZL, 1968, 1969; v. FURTH, 1969; SPECTOR und RYAN, 1969; v. FURTH und DISSELHOF DEN DULK, 1970)

Die mononucleären Phagocyten bilden, wie andere Zellen myelogenen Ursprungs, eine eigene Zelllinie. (v. FURTH, 1969) Die unreifste, im Knochenmark sicher identifizierbare Vorläuferzelle ist bei panoptischer Färbung der Promonocyt. Bei Anwendung cytochemischer Untersuchungsmethoden lassen sich noch unreifere Vorstufen nachweisen. Der Promonocyt stellt eine teilungsfähige Zelle dar, aus der zwei Mono-

cyten entstehen. Einige Untersuchungsergebnisse sollen zur Verdeutlichung der obigen Ausführungen beitragen: VOLKMAN und GOWANS (1965 a, b) gelang es erstmalig, den myelogenen Ursprung der freien Makrophagen nachzuweisen, indem sie syngenetischen Tieren ^3H -Thymidin-markierte Knochenmarkszellen intravenös injizierten. Die Versuche wurden an Ratten durchgeführt. Als bald befanden sich markierte Monocyten in der Zirkulation. Markierungsstudien nach Splenektomie schlossen die Milz als Quelle der Makrophagenvorläufer aus. Untersuchungen an Ratten, denen unter teilweiser Abschirmung des Knochenmarkes eine Ganzkörperbestrahlung verabfolgt wurde, und die anschließend ^3H -Thymidin intravenös erhielten, zeigten ebenfalls, daß sich die Vorläuferzellen der Blutmonocyten im Knochenmark befinden. Direkte Hinweise auf die Existenz von Monocytenvorstufen im Knochenmark erbrachten in-vitro-Kulturen von Knochenmarkszellen, die Versuchstieren entstammten, denen eine gewisse Zeit vor Entnahme der Zellen ^3H -Thymidin injiziert worden war. Knochenmarkszellen, die 48 Stunden in-vitro kultiviert wurden, enthielten eine Makrophagenpopulation, von der etwa 30 % ^3H -Thymidin inkorporiert hatte. Der hohe Anteil der markierten Makrophagen stand im scharfen Gegensatz zu dem niedrigen Prozentsatz, der bei Blutmonocyten und Gewebemakrophagen gefunden wurde. Das Versuchsergebnis weist darauf hin, daß die Monocytenvorstufen proliferierende Zellen sind. Nach einer kurzen Inkubationszeit der Knochenmarkszellen von ca. 6 Stunden ließen sich zwei Zelltypen unterscheiden, die beide zur Phagocytose befähigt waren, fest an Glasflächen hafteten und charakteristische Bewegungen der Zelloberfläche zeigten. Bei 80 - 85 % der Zellen handelte es sich um Monocyten, die sich in bezug auf Größe, Morphologie und Funktion nicht von Blutmonocyten unterschieden. Die übrigen 15 - 20 % waren Promonocyten. Auch bei Anwendung cytochemischer Methoden konnten die Promonocyten als solche erkannt werden. (SCHMALZL und BRAUNSTEINER, 1968, 1969)

In-vitro Markierungsstudien an Knochenmarkszellen haben ferner gezeigt, daß, unabhängig davon, wie lange die Kulturen ^3H -Thymidin ausgesetzt waren, sich etwa 50 % der Promonocyten als markiert erwiesen. Die Monocyten waren anfangs nicht markiert; nach 24 Stunden ließ sich jedoch bei 2 % von ihnen eine Markierung nachweisen. Die Promonocyten und die Monocyten sind demnach die proliferationsfähigen Zellen. (v. FURTH und DISSELHOF DEN DULK, 1970)

Bei Mäusen, die eine einzige ^3H -Thymidin-Injektion (Pulsmarkierung) erhalten hatten, blieb der Promonocyten-Markierungsindex während der ersten 24 Stunden nach der Injektion unverändert. Der Markierungsindex der Knochenmarksmonocyten wuchs während der gleichen Zeit auf 33 % an. Die Kornzahl der Knochenmarksmonocyten blieb konstant und betrug die Hälfte der Zahl, die in den Promonocyten nachweisbar war. Die DNS-Synthesezeit (S-Phase) der Promonocyten wurde mit 13,6 Stunden, ihre Generationszeit mit ca. 19,5 Stunden bestimmt. (v. FURTH und DISSELHOF DEN DULK, 1970)

Aufgrund der vorstehenden Angaben über die Markierungsindices, die durchschnittlichen Kornzahlen sowie das Verhältnis zwischen Promonocyten und Monocyten im Knochenmark ist der Schluß zulässig, daß die Promonocyten teilungsfähige Zellen sind, aus denen zwei Monocyten entstehen. Sie teilen sich unter "steady state Bedingungen" nicht mehr.

Auch enzymhistochemische Untersuchungen haben die Trennung der monocytären von den granulocytären Vorstufen im Knochenmark ermöglicht. Es wurde festgestellt, daß monocytäre Vorläuferzellen in wesentlich größerer Menge vorhanden sind als dies aufgrund panoptischer Färbungen angenommen werden konnte. In den Monocyten und ihren Vorstufen ließ sich im Gegensatz zur granulocytären Reihe kaum Naphtol-AS-D-Chloracetat-Esterase nachweisen. Die Enzyme Naphtol-AS-Acetat-Esterase und Alpha-Naphtol-Acetat-Esterase erwiesen sich bei den Monocyten und ihren Vorstufen durch Natriumfluorid als fast völlig hemmbar. Bei der granulocytären Reihe waren

die genannten Enzyme durch Natriumfluorid nicht zu hemmen. (SCHMALZL und BRAUNSTEINER, 1969)

Mit der Methode der ^3H -Thymidin-Markierung konnte weiterhin bewiesen werden, daß Monocyten an den Ort einer entzündlichen Reaktion gelangen und sich dort zu Makrophagen umwandeln. (MC. CLUSCEY et al, 1963; DANNENBERG, 1968; COHN, 1968; BLANDEN, 1968; BLANDEN et al, 1969) Die Makrophagen im Entzündungsgebiet gehen nicht aus den ortsständigen bindegewebigen Elementen hervor. (KONSUNEN et al, 1963) SPECTOR et al (1965) und VOLKMAN und GOWANS (1965 a) zeigten ebenfalls, daß die zirkulierenden Monocyten die ausschließliche Quelle der im Bereich einer Entzündung anzutreffenden freien Makrophagen sind. SPECTOR und WILLOUGHBY (1968) studierten komplexe Formen der Entzündung, beispielsweise durch inkomplettes Freund'sches Adjuvans hervorgerufene Granulome. Wurden solche Granulome bei Ratten induziert, deren Knochenmark und lymphatisches Gewebe man kurz zuvor bestrahlt hatte, so waren so lange keine Monocyten und Makrophagen im Entzündungsgebiet nachweisbar, bis Monocyten intravenös verabreicht wurden. Lymphknoten- und Thymuszellen erwiesen sich in dieser Hinsicht als nicht zum Ersatz befähigt. Sobald die Monocyten den Entzündungsort erreicht hatten, machten sie Veränderungen durch, die in der Transformation zu Makrophagen und Epitheloidzellen bestanden.

Die neu gebildeten Monocyten erscheinen sofort nach ihrer Entstehung im Blutstrom. Im Knochenmark befindet sich nur eine geringe Reserve an Monocyten. (v. FURTH und DISSELHOF DEN DULK, 1970) Ihre Verweildauer im Blut beträgt unter "steady-state Bedingungen" 22 - 32, maximal 40 Stunden. Danach wandern die Monocyten in das Gewebe ab. Bei erhöhter Nachfrage der Peripherie resultieren kürzere Verweildauern in der Zirkulation. (v. FURTH und COHN, 1968) Die für die Ausschleusung der Monocyten aus dem Knochenmark verant-

wortlichen Faktoren sind unbekannt. Es herrscht Übereinstimmung darüber, daß die Blutmonocyten eine Population von noch nicht voll ausdifferenzierten Zellen sind, die sich auf dem Weg von ihrem Ursprungsort, dem Knochenmark, zu ihrem Bestimmungsort, dem Gewebe, befinden.

Sobald die Monocyten infolge ihrer amöboiden Beweglichkeit im Kapillarbereich das Gefäßsystem verlassen und das Gewebe erreicht haben, werden sie per definitionem als "ruhende Makrophagen" (ROOS, 1970) bezeichnet. Die "ruhenden Makrophagen" oder die "Monocyten des Gewebes" erweisen sich im elektronenoptischen Bild als den Blutmonocyten sehr ähnliche, protoplasmareiche, runde Zellen, die reichlich mit Organellen versehen sind. Es finden sich verschieden große Bläschen, die dem glatten endoplasmatischen Reticulum zugehören, eine eher mäßige Anzahl von Mitochondrien, spärlich freie Ribosomen und rauhes endoplasmatisches Reticulum sowie primäre und sekundäre Lysosomen. Der Kern der ruhenden Makrophagen ist meist mittelgroß, oft nierenförmig eingebuchtet, mit lockerer, reticulärer Kernstruktur und deutlicher Kernmembran. (HIRSCH und FEDORKO, 1969) Das lichtoptische Bild zeigt kaum Unterschiede zwischen Blutmonocyten und ruhenden Makrophagen.

Kommt jedoch ein ruhender Makrophage (Monocyt im Gewebe) oder ein Monocyt im Blutstrom mit phagocytierbarem Material in Kontakt, so erfährt seine Feinstruktur tiefgreifende Veränderungen. Sie bestehen in einer erheblichen Vergrößerung der Zelle, in der starken Vermehrung "phasendichter Granula" (primäre Lysosomen) und der Mitochondrien sowie einer Ausweitung des Golgi-Apparates. Die Zahl der Pseudopodien nimmt erheblich zu, so daß sich die Zelle entrundet und sowohl elektronenoptisch als auch lichtoptisch ein zerklüftetes, bizarres Aussehen erhält. (HIRSCH und FEDORKO, 1969; DAEMS und BREDEROO, 1969) Die Monocyten bzw. ruhenden Makrophagen, die aufgrund der Kontaktaufnahme mit

phagocytierbarem Material die beschriebenen cytomorphologischen Veränderungen erfahren haben, bezeichnet HIRSCH (1969) als aktivierte Makrophagen. Aktivierte Makrophagen zeigen im Vergleich zu ruhenden Makrophagen und Blutmonocyten eine erhöhte Phagocytose - und Abbauleistung, die Eigenschaft, fest an Glasflächen zu haften (Spreizungsphänomen) und charakteristische, ondulierende Bewegungen der Zelloberfläche. (HIRSCH und FEDORKO, 1969) Der Bestand der Zellen an lysosomalen Enzymen und damit an primären Lysosomen nimmt erheblich zu. (COHN und WIENER, 1963; COHN und BENSON, 1965 a, b, c; BENNET und COHN, 1967; COHN, 1966; COHN et al, 1966 a, b; COHN und PARKS, 1966; KÖLSCH und MITCHISON, 1968; EHRENREICH und COHN, 1967, 1969; COHN und EHRENREICH, 1969) HIRSCH (1969) versteht unter Makrophagenaktivierung alle die sich auf molekularer Ebene abspielenden Vorgänge, die aus einem ruhenden Makrophagen eine in bezug auf ihre Funktion, der Phago- und Pinocytose mit anschließendem intracellulären Abbau, hochaktive Zellen machen. Nach MACKANESS (1969) gibt es verschiedene Aktivierungsgrade der freien Makrophagen. Makrophagen von höchster Aktivität, die bei der Lebendbeobachtung ebenfalls bestimmte, charakteristische Merkmale aufweisen, bezeichnet er als "zornige Makrophagen". Der Autor ist der Ansicht, daß hohe Aktivierungsgrade nur dann zustande kommen, wenn die genannten Zellen in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden.

Die mononucleären Phagocyten sind über den gesamten Organismus verbreitet. Es gibt kaum einen Ort im Vertebratenorganismus, an dem sie sich nicht befinden oder wo sie aus gegebenen Anlaß nicht schnell hingelangen könnten. Bevorzugt sind sie im Knochenmark, im Blut, in der Leber, in den Lungen, im lymphoreticulären Gewebe, im lockeren Bindegewebe (subepithelial, subendothelial, subserös, pericapillär adventitiell) und in den serösen Höhlen, vor allem in der

Bauchhöhle, anzutreffen. Die Peritonealmakrophagen - das sind die freien Makrophagen in der Bauchhöhle - und die anderer seröser Höhlen (Gelenkhöhlen, Bursen), die Alveolarmakrophagen, die Hautmakrophagen und die Lebermakrophagen (v. Kupfferschen Sternzellen) sind sämtlich monocytären Ursprungs. (VIROLAINEN, 1968; v. FURTH und COHN, 1968; MORRIS, 1968; NORTH, 1969; v. FURTH, 1969; HOWARD, 1969; WISSE und DAEMS, 1969; ROSER, 1969; SLONECKER et al, 1969; BOWDEN et al, 1969; SPECTOR und RYAN, 1969)

Im reticulären Gewebe der Milz leiten sich die freien Makrophagen ebenfalls von den Monocyten und damit von Stammzellen im Knochenmark ab. (LANGEVOORT et al, 1969) Sie befinden sich in den Lichtungen der Sinus und den Maschen des reticulären Fasergerüsts. Außerdem gibt es "fixierte Makrophagen" (fixed macrophages; LANGEVOORT et al, 1969) im reticulären Gewebe. LANGEVOORT et al (1969) sind der Ansicht, daß auch diese Zellen keine primär ortsständigen Elemente des R.E.S. darstellen, sondern mobile Makrophagen monocytären Ursprungs sind, die sich an die Cytoplasmafortsätze der Reticulumzellen angeheftet haben. Es konnte nämlich bisher nicht beobachtet werden, daß die fixierten Makrophagen Reticulinfasern bilden. In die gleiche Richtung weisen Untersuchungen von WISSE und DAEMS (1969), nach denen sich mononucleäre Phagocyten als v. Kupffersche Sternzellen mit ihren Cytoplasmafortsätzen an die Endothelien der Lebersinusoiden anheften können.

Die Faktoren, die die Produktionsrate der mononucleären Phagocyten im Knochenmark, ihre Ausschleusung aus dem Knochenmark sowie ihren Umsatz im Gewebe bestimmen, sind unbekannt. Ebenso ist es ein ungelöstes Problem, ob diese Zellen rezirkulieren.

Über die Lebensdauer der freien Makrophagen im Gewebe lassen sich keine sicheren Aussagen machen. Nach v. FURTH

(1969) soll sie mehrere Monate betragen. Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß die genannten Zellen keine echten Endzellen sind, die unter physiologischen Bedingungen ihre Teilungsfähigkeit eingebüßt haben, sondern unter Normalbedingungen größtenteils nicht proliferierende, d.h. in bezug auf die DNS-Synthese inaktive Zellen sind. Unter Normalbedingungen scheinen sie demnach eine begrenzte Lebensdauer aufzuweisen, vorausgesetzt, daß kein mitogener Stimulus auf sie einwirkt. Für den entsprechenden Nachschub wird durch Stammzellen im Knochenmark gesorgt. Die Zellteilungsrate der in der Peripherie befindlichen Makrophagen ist sehr gering und unregelmäßig. (FORBES und MACKANESS, 1963; LOEWI, 1969; NORTH, 1969 a, b)

Unter der Bedingung, daß sich eine zelluläre Immunantwort gegen mikrobielle Antigene entwickelt, können die im Gewebe befindlichen freien Makrophagen jedoch exzessive Teilungsaktivität entfalten. (MACKANESS, 1969)

1.3 Die cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp als Manifestation der zellulären Immunantwort

1.3.1 Definitionen

Die Überempfindlichkeit vom Spättyp, die lokalisiert und systemisch in Erscheinung tritt, stellt eine Manifestation der zellulären Immunantwort dar. Sie läßt sich unter Wahrung bestimmter Bedingungen mit Proteinantigenen verschiedensten Ursprungs herbeiführen. (Übersicht s. STEFFEN, 1968) Als Tuberkulinreaktion wird die lokale (cutane) Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein bezeichnet. Weitere Manifestationen der "zellulären Immunantwort sind die Kontaktüberempfindlichkeit, die "cell-mediated immunity" (MACKANESS, 1969), bei der es sich um einen wirkungsvollen Schutzmechanismus gegenüber dem infektiösen Zugriff der sogenannten facultativ und obligat intracellulären mikrobiellen Krankheitserreger handelt (Übersicht s. ROOS, 1970), die Transplantatabstoßungsreaktion, die endogene Überwachung und immunologische Tumorbabwehr sowie bestimmte autoaggressive Erkrankungen.

Eine zelluläre Immunantwort entsteht aktiv nach dem Zusammentreffen des Organismus mit einem Antigen. (STEFFEN, 1968; HUMPHREY und WHITE, 1971) Der erste Antigenkontakt, als sensibilisierender Antigenkontakt bezeichnet, führt nach STEFFEN (1968) zur Bildung von Immunzellen, die das Immunprodukt der zellulären Immunantwort darstellen. Die Immunzellen zeichnen sich wie das Antigen durch Spezifität aus. Sie treten nur mit dem Antigen in Reaktion, das in seiner spezifischen Struktur (Determinantenkonformation) dem Antigen entspricht oder weitgehend ähnlich ist, das die zelluläre Immunantwort herbeigeführt hat. Für die Existenz der Immunzellen liegen heute beweiskräftige Argumente vor.

1.3.2 Identität, Ursprung und Eigenschaften der Immunzellen, die für den Vollzug der zellulären Immunantwort verantwortlich sind

Die Immunzellen, die für den Vollzug der zellulären Immunantwort verantwortlich sind, d.h. die als Immunprodukt der genannten Immunantwort spezifisch mit dem Antigen, das ihre Bildung hervorgerufen hat, in Reaktion treten, imponieren morphologisch als kleine Lymphocyten. (Übersicht s. TURK und OORT, 1970; OWEN, 1970; HESS, 1970; HUMPHERY und WHITE, 1971) COTTIER (1970) bezeichnet sie als spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten. BLOOM (1971) nennt sie auch "Effektorzellen". An ihrer Zellmembran, und zwar als Bestandteil derselben, tragen sie spezifitätsbestimmende "recognition-sites" oder Rezeptoren von Proteincharakter. Mit ihnen nehmen sie den Kontakt zum spezifischen Antigen auf. (NOSSAL, 1972; JONDAL et al, 1972; SHORTMAN et al, 1972; HOWARD et al, 1972; NOSSAL et al, 1972; Übersichten s. BACH, 1971 und FLOERSHEIM, 1971)

Die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) entstehen nach antigener Stimulierung in den paracorticalen Arealen der Lymphknoten oder, falls das Antigen über Lymphwege in die Blutbahn gelangt, im Bereich der periarteriolen Lymphscheiden der Milz. (TURK und OORT, 1970) Die genannten Zellen sind differenzierte Abkömmlinge einer Population aus dem Thymus stammender kleiner Lymphocyten, die zur Gruppe der immunkompetenten kleinen Lymphocyten gehören. Heute ist für diese Zellen die Bezeichnung T-Lymphocyten gebräuchlich. (MITCHELL, 1971; FLOERSHEIM, 1971; DIXON und KUNKEL, 1971) Spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) sind langlebiger und rezirkulieren. (EVERETT et al, 1964; FITZGERALD, 1964; GOWANS und KNIGHT, 1964; GOWANS und MC. GREGOR, 1965; MEKELA und MITCHISON, 1965; GOWANS, 1966; Übersicht s. HUMPHREY und WHITE, 1971) Hauptsächlich befinden sie sich, wenn sie einmal produziert worden sind, in den paracorti-

calen Bezirken der Lymphknoten und der Milz. Aufgrund ihrer Rezirkulationsfähigkeit gelangen sie turnusmäßig in alle vascularisierten Gewebsbereiche, einschließlich der serösen Höhlen des Organismus, um im Bedarfsfall mit einem Antigen, wo auch immer es lokalisiert ist, spezifisch in Reaktion zu treten.

Die Anwesenheit der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten befähigt den Organismus zur Hervorbringung der verschiedenen Manifestationen der zellulären Immunantwort. (Übersicht s. STEFFEN, 1968; HUMPHREY und WHITE, 1971)

1.3.3 Zum Produktionsprozeß der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten

1.3.3.1 Identität, Ursprung und Eigenschaften der immun-kompetenten kleinen Lymphocyten (T-Lymphocyten), aus denen die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) hervorgehen

Eine aus dem Thymus stammende Population immunkompetenter kleiner Lymphocyten - als T-Lymphocyten bezeichnet - stellt nach dem heutigen Stand der Erkenntnis die Ausgangszellen für die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) dar. T-Lymphocyten sind imstande, sich als Ergebnis ihres ersten Kontaktes mit einem Antigen zu spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten zu differenzieren, haben jedoch einen derartigen antigenen Stimulus noch nicht erfahren. (Übersichten s. COTTIER et al, 1970; HUMPHREY und WHITE, 1971) An der Oberfläche ihrer Zellmembran besitzen sie ein sie charakterisierendes Transplantationsantigen (theta-Antigen; REIF und ALLEN, 1964)

Die genannten Zellen werden hauptsächlich während des embryonalen, aber auch während des gesamten postembryonalen Lebens von im Thymus befindlichen Stammzellen produziert

und gelangen auf dem Blut- oder Lymphweg in die thymusabhängigen Bezirke der Milz und der Lymphknoten sowie turnusmäßig in alle Rezirkulationsräume des Organismus. (TURK und OORT, 1970) Unter den thymusabhängigen Bezirken versteht man die Mantelzonen, die die Zentralarterien der Malphigischen Follikel der Milz umgeben und die paracorticalen Bezirke der Lymphknoten. (HUMPHREY und WHITE, 1971)

T-Lymphocyten sind langlebig und rezirkulieren. Durch transformierende Agentien wie Phytohämagglutinin (PHA) u.a. lassen sie sich unter blastenartiger Gestaltswandlung zur mitotischen Teilung anregen. Im Bereich ihrer Zelloberfläche und zwar als Bestandteil derselben, tragen sie spezifitätsbestimmende Rezeptoren von Proteincharakter, mit denen das sie stimulierende Antigen in Kontakt treten muß. Ein T-Lymphocyt gegebener genetischer Determination kann nicht durch jedes beliebige, sondern nur durch ein bestimmtes Antigen zur klonalen Proliferation mit anschließender terminaler Differenzierung zu spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) gegen das stimulierende Antigen angeregt werden. (HILSCHMAN, 1969) Wenn in diesem Zusammenhang von Antigenen die Rede ist, so handelt es sich, dem immunologischen Sprachgebrauch folgend, um lösliche Makromoleküle, Mikrobenzellen oder um Zellen und Gewebe von Säugetieren einschließlich des Menschen.

1.3.3.2 Wie wird ein immunkompetenter kleiner T-Lymphocyt durch ein Antigen stimuliert?

Unter dem Begriff der Stimulierung eines immunkompetenten kleinen T-Lymphocyten durch ein Antigen subsummiert man:

1. Die Kontaktaufnahme der Zelle mit dem Antigen.
2. Alle die sich auf molekularbiologischer Ebene abspielenden Vorgänge, die zunächst zur Immunoblastentransformation und schließlich zur Proliferation der transformierten Zelle bei gleichzeitiger terminaler Differen-

zierung der Tochterzellen und Bildung eines Klonen spezifisch sensibilisierter kleiner Lymphocyten führen. Der Stimulierungsprozeß wird nach dem, was man bis heute darüber weiß, dadurch eingeleitet, daß das Antigen - genauer gesagt, dessen Determinante oder Determinanten - kurzzeitig mit Rezeptoren oder antigenerkennenden Strukturen proteinogener Natur in Kontakt tritt, die sich auf der Zellmembran der T-Lymphocyten befinden. Es ist nicht bekannt, ob ein T-Lymphocyt nur eine oder mehrere identische antigenerkennende Strukturen auf seiner Zelloberfläche trägt. Wie bereits ausgeführt, ist die Stimulierung eines T-Lymphocyten durch ein Antigen ein selektiver Prozeß. Über die Vorgänge, die auf molekularbiologischer Ebene bei der Stimulierung vonstatten gehen, gibt es derzeit keine Informationen.

1.3.3.3 An welchem Ort wird ein immunkompetenter kleiner T-Lymphocyt durch ein Antigen stimuliert?

MEDAWAR (1958) hat als erster die Ansicht vertreten, daß die zelluläre Immunantwort der Vernichtung von antigenen Strukturen dient, die sich weit in der Peripherie befinden und die aufgrund ihrer Eigenart - es handelt sich um in der Peripherie fixierte Zellen und Gewebe - nicht in die regionalen Lymphknoten gelangen, den humoralen Abwehrmechanismen schlecht zugänglich sind und darüber hinaus durch sie nicht wirksam bekämpft werden können. Ausgehend von den Gedankengängen MEDAWARS sind heute folgende Vorstellungen über den Ort der antigenen Stimulierung sowie über den Sensibilisierungsprozeß entwickelt worden:

1. Infolge ihrer Rezirkulationsfähigkeit und amöboiden Beweglichkeit gelangen immunkompetente kleine T-Lymphocyten zum in der Peripherie fixierten Antigen. Derjenige T-Lymphocyt, der den "passenden" Rezeptor auf seiner

Zellmembran trägt, empfängt daselbst den antigenen Stimulus. Wieviel T-Lymphocyten stimuliert werden, hängt davon ab, ob nur einer oder mehrere immunkompetente T-Lymphocyten gleicher Determination zum Ort des Antigens gelangen. Ferner kann das Antigen mehrere, nicht identische Determinanten besitzen. In diesem Fall würden mehrere T-Lymphocyten nicht identischer Determination stimuliert werden.

2. Der stimulierte T-Lymphocyt gelangt über afferente Lymphgefäße in den thymusabhängigen Bezirk des regionalen Lymphknotens.
3. Im thymusabhängigen Bezirk des regionalen Lymphknotens erfolgt die Immunblastentransformation sowie die klonale Proliferation der stimulierten Zelle und schließlich die terminale Differenzierung der Tochterzellen zu spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen), deren Spezifität gegen das Antigen gerichtet ist, das ihre Bildung induziert hat. Die Effektorzellen, die sich ebenfalls durch Rezirkulationsfähigkeit auszeichnen, gelangen schnell zum Ort des Antigens, um mit diesem spezifisch in Reaktion zu treten. Die Folgeerscheinungen der Antigen-Immunzell-Reaktion, deren Erörterung einem späteren Abschnitt vorbehalten bleiben soll, führen zur jeweiligen Manifestation der zellulären Immunantwort. Diese wiederum hängt in ihrer Qualität und Quantität von der Eigenart des Antigens ab.

Bisher vorliegende experimentelle Ergebnisse und Beobachtungen bei der Transplantatabstoßungsreaktion, der immunologischen Tumorabwehr, bestimmten autoaggressiven Erkrankungen sowie bei der Kontaktüberempfindlichkeit sprechen dafür, daß die Stimulierung (Kontaktaufnahme des T-Lymphocyten mit dem Antigen) in der Peripherie erfolgt und daß der stimulierte Lymphocyt auf dem Lymphweg in den

thymusabhängigen paracorticalen Bezirk des regionalen Lymphknotens gelangt. (FREY und WENK, 1957; FAIGLE et al, 1962; TURK und STONE, 1963; STROBER und GOWANS, 1965; DIENGDOH und TURK, 1965; HELLMAN et al, 1965; FABRO et al, 1965; TURK et al, 1966; TURK und OORT, 1970)

Eine Ausnahme machen mikrobielle Krankheitserreger, die aufgrund struktureller Eigenarten eine zelluläre Immunantwort herbeiführen. Bei der Abwehr der sog. facultativ und obligat intracellulären mikrobiellen Krankheitserreger tritt die zelluläre Immunantwort als "cell-mediated immunity" maßgeblich in Erscheinung. (Übersicht s. ROOS, 1970) Mikroben gelangen vom Ort ihres unmittelbaren Eindringens in den Organismus über afferente Lymphgefäße schnell in den regionalen Lymphknoten. Deshalb findet die Stimulierung des entsprechenden T-Lymphocyten im paracorticalen Bereich des regionalen Lymphknotens statt. Stimulierungs- und Proliferationsort fallen zusammen. (TURK und OORT, 1970) Auch in den thymusabhängigen Bezirken der Milz werden T-Lymphocyten stimuliert und damit spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten gebildet, wenn die regionalen Lymphknoten dem Vordringen des mikrobiellen Krankheitserregers (Antigens) nicht Einhalt gebieten können und dieser in die Blutbahn gelangt. (TURK und OORT, 1970)

Abschließend sei im Zusammenhang mit den in diesem Abschnitt erörterten Fragen darauf hingewiesen, daß ein Antigen bestimmte Bedingungen erfüllen muß, damit es eine zelluläre Immunantwort hervorruft. Sie erstrecken sich hauptsächlich auf den Zustand des Antigens sowie auf den Weg der Antigenzufuhr. (Übersicht s. STEFFEN, 1968; HUMPHREY und WHITE, 1971; CHAPARAS et al, 1971) Die sog. facultativ und obligat intracellulären mikrobiellen Krankheitserreger, zu denen die Tuberkelbakterien gehören, erfüllen diese Bedingungen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann jedoch nicht

darauf eingegangen werden, aufgrund welcher strukturellen Eigenschaften die genannte Erregergruppe eine zelluläre Immunantwort in einem Wirtsorganismus hervorruft.

1.4 Die Tuberkulinreaktion als cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp

Die Tuberkulinreaktion stellt eine cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp auf Proteinantigene der Tuberkelbakterien dar, die bei Versuchstier und Mensch eine Tuberkulose hervorrufen. (GILLISSEN, 1968) Es handelt sich um eine lokale Reaktion. Sie läßt sich, indem entsprechende Tuberkuloproteinpräparationen (Alt-Tuberkulin, gereinigtes Tuberkulin, PPD) intradermal verabreicht werden, frühestens am 7. - 9. Tag nach der sensibilisierenden Auseinandersetzung des Organismus mit Mykobakterien auslösen. (COLLINS und MACKANESS, 1970) Zur Herbeiführung einer Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein beim Versuchstier und beim Menschen wird häufig der BCG-Stamm "Schweden" (*Bacillus Guerin-Calmette*) benutzt, weil die im Handel erhältlichen Tuberkuline sämtlich aus der genannten Species gewonnen werden. Hauttestungen sollten nicht vor dem 21. Tag nach der sensibilisierenden Mykobakterieninjektion durchgeführt werden, da zu diesem Zeitpunkt störende unspezifische sowie auf immunologischen Mechanismus beruhende Nebenreaktionen weitgehend geschwunden sind und die spezifische Reaktion sehr intensiv ist. Eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp, die mindestens 21 Tage nach der Sensibilisierung ausgelöst wird, weist am reinsten die histologischen Merkmale auf, die eine "klassische Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp" (classical delayed type reaction; DVORAK et al, 1971) haben soll.

Makroskopisch läßt sich die Tuberkulinreaktion folgendermaßen beschreiben: 4 - 8 Stunden nach der Vornahme der Hauttestung entwickelt sich am Injektionsort ein Erythem. Gleichzeitig kommt es zu einer Dickenzunahme der Haut, die durch ein tastbares Infiltrat hervorgerufen wird (Induration). Die Ausdehnung des Erythems und des Infiltrates nehmen zu, das Maximum wird zwischen 24 und 48 Stunden nach

der Injektion des Tuberkulins erreicht. Im Zentrum des Reaktionsbereiches tritt nicht selten eine Nekrose auf. Das Erythem wird als typisch für die Tuberkulinreaktion angesehen. Es übertrifft oft die Infiltratfläche. Wenn die Reaktion nach 21 Tagen ausgelöst wird, ist das Erythem zwar nicht so ausgeprägt wie vor diesem Termin, aber dennoch deutlich vorhanden. (O'GRADY und PATH, 1967) Als Bemessungsgrad für die Intensität der Reaktion gilt der Durchmesser des annähernd kreisförmigen, tastbaren Infiltrates. (COLLINS und MACKANESS, 1970 a, b u.a.)

Die Tuberkulinreaktion zeigt das charakteristische histologische Bild der lokalen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp auf Proteinantigene. (Übersicht s. SPECTOR, 1967) Im Bereich des Antigendepots kommt es zur Ansammlung von kleinen Lymphocyten und Monocyten. Die Monocyten, die aus dem Knochenmark stammen, transformieren sich nach und nach zu freien Makrophagen und imponieren als "aktivierte Makrophagen". (MACKANESS, 1969) Die Lymphocyten transformieren sich zum großen Teil blastoid. Man erkennt sie jedoch als Lymphocyten. (WIENER et al, 1965; FELDMAN und LEE, 1967; LUBAROFF und WAKSMAN, 1978; KOLIN, 1968; JURGENSEN, 1968; COHN, 1968; v. FURTH und COHN, 1968; DANNENBERG, 1968; MASSHOF, 1969; BELETSKAJA et al, 1969; ROOS, 1970; DESAGA et al, 1970; BOSMAN und FELDMAN, 1970; BLOOM und BENNETT, 1970; DVORAK, 1971; RICHARDSON, 1971; BLOOM, 1971)

DESAGA et al (1970) und DVORAK et al (1971) haben den zeitlichen Ablauf der Tuberkulinreaktion histologisch untersucht. Unmittelbar nach dem Hauttest entwickelte sich ein nur histologisch feststellbares perivaskuläres Infiltrat im Corium, das überwiegend aus neutrophilen und eosinophilen Granulocyten bestand. Mononucleäre Zellen (kleine Lymphocyten und Monocyten) waren nur in geringer Menge vorhanden. Nach 3 Stunden waren die Granulocyten größtenteils

ins umgebende Gewebe abgewandert, und es fiel eine große Zahl perivascular gelagerter kleiner Lymphocyten und Monocyten auf. Basophile Granulocyten fehlten. Nach 6 Stunden - das Infiltrat wurde gerade tastbar - hatte die perivascularäre Ansammlung der kleinen Lymphocyten und Monocyten stark zugenommen. Sie fanden sich vor allem um die Venolen des Coriums und in der Subcutis. Die tiefen Schichten der Epidermis wurden gerade diffus infiltriert. In den folgenden Stunden nahm die mononucleäre Infiltration weiter zu, indem ausgedehnte Areale der Cutis und Subcutis einbezogen wurden. Auch das Stratum germinativum wies nunmehr eine starke, rein mononucleäre Infiltration auf. Das Maximum der Infiltration wurde zu einem Zeitpunkt zwischen der 24. und der 48. Stunde nach der Hauttestung erreicht. Im Reaktionsbereich transformierten sich die Monocyten in zunehmender Zahl zu freien Makrophagen (mononucleäre Phagocyten), die die typischen Merkmale aktivierter Makrophagen aufwiesen. (COHN, 1968; v. FURTH und COHN, 1968; DANNENBERG, 1968; ROOS, 1970; BOSMAN und FELDMAN, 1970; BLOOM und BENNETT, 1970) Ganz zu Anfang überwogen zahlenmäßig die kleinen Lymphocyten. (JIVORAK und MIHM, 1972) Mit fortschreitender Reaktion übertrafen die Monocyten die kleinen Lymphocyten bei weitem, so daß lichtoptisch immer mehr die sich transformierenden Monocyten ins Blickfeld gerieten und schließlich aktivierte freie Makrophagen das Entzündungsfeld beherrschten. Die kleinen Lymphocyten erschienen jedoch zuerst im Bereich des Antigendepots. Der anfänglich hohe Anteil der neutrophilen Granulocyten fiel bis zur 12. Stunde fast bis auf 0 ab. Nach 6 Stunden wurden Blutbasophile bemerkbar, die nach 12, 14 und 36 Stunden ca. 2 % der Infiltratzellen ausmachten.

Studien über die prozentuale Beteiligung der kleinen Lymphocyten und Monocyten / Makrophagen an der Zusammensetzung des Infiltrates - als Untersuchungsmethoden dienten morphologische und cytochemische Verfahren - führten zu dem

Schluß, daß, nachdem zu Beginn der spezifischen Reaktion nur kleine Lymphocyten anwesend waren, Monocyten und kleine Lymphocyten im Verhältnis 1 : 1 das stetig an Umfang zunehmende Infiltrat ausmachten. (Die Granulocyten blieben als nicht spezifisches Element außer Betracht) Nach 15 Stunden lagen bezüglich der prozentualen Zusammensetzung der mononucleären Zellen gleiche Verhältnisse vor. (DUMONDE und PATH, 1967) Zum Zeitpunkt des Reaktionsmaximums hatte sich jedoch das Verhältnis zugunsten der Monocyten / Makrophagen gewandelt. Das Infiltrat bestand jetzt zu 80 - 90 % aus Monocyten / Makrophagen und zu 10 - 20 % aus kleinen Lymphocyten. (FELDMAN und NAJERIAN, 1963; MC. CLUSCEY et al, 1963; WIENER et al, 1965; TURK et al, 1966; BOSMAN und FELDMAN, 1970)

BAUMGARTEN und WILHELM (1969) untersuchten an Meerschweinchen, bei denen sie eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein erzeugt hatten, die Gefäßpermeabilität im Verlauf der Hautreaktion. Die Autoren injizierten den Tieren Jod-131-markiertes Rinderserumalbumin (131-J-BSA) oder den Farbstoff "Evans blue" intravenös und lösten die Tuberkulinreaktion zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Verabfolgung der genannten Substanzen aus. Nach der Tötung der Tiere wurden die Hautbezirke, an denen die Reaktionen abliefen, herausgeschnitten, gewogen und ihre Radioaktivität mit einem Radioszintillationszähler bestimmt oder der Durchmesser der Blaufärbung gemessen. Auf diese Weise konnte festgestellt werden, daß die Tuberkulinreaktion biphasisch abläuft. Eine "Initialphase" erhöhter Gefäßpermeabilität begann unmittelbar nach der Tuberkulininjektion und endete 15 - 20 Minuten später. Die "delayed phase", bei der es sich um die spezifische Phase handelte, begann nach 3 Stunden, erreichte das Maximum nach 16 - 24 Stunden und flaute nach 48 Stunden ab. Manchmal ließ sich eine "intermediate phase" feststellen, die nach 60 Minuten

begann und nach 90 - 120 Minuten endete. Die "delayed phase" ging konform mit der Intensität der Tuberkulinreaktion (Infiltratdurchmesser) und mit der Ausprägung des spezifischen mononucleären Infiltrates.

Von der eben beschriebenen "klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp" ist eine transiente Reaktion vom Spättyp abzugrenzen, die heute als "cutaneous basophil hypersensitivity" (C.B.H.; RICHARDSON et al, 1969) bezeichnet wird. Bis vor kurzem wurde diese Reaktion für eine "milde Form" der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gehalten. Aufgrund der Bedingungen der Antigenzufuhr, der zeitlichen Relationen ihres Auftretens und ihrer Histologie gelang jedoch ihre Abgrenzung. (RICHARDSON et al, 1969; 1971 a, b; DVORAK und MIHM, 1972) Eine klassische Reaktion gegen ein Proteinantigen konnte nur dann hervorgerufen werden, wenn dieses zusammen mit Freunds komplettem Adjuvans (F.C.A.) verabreicht wurde. Eine C.B.H. ließ sich dagegen durch die Zufuhr des Proteinantigens in Freunds inkomplettem Adjuvans (F.I.A.) oder durch die intradermale Verabreichung geringer Mengen des Proteinantigens allein auslösen. Die C.B.H. trat bereits am 3. bis 4. Tag nach der Sensibilisierung auf, die klassische Reaktion nicht vor dem 7. - 9. Tag. Am 21. Tag war die C.B.H. häufig nicht mehr nachzuweisen, die klassische Reaktion dagegen trat zu diesem Zeitpunkt erst recht deutlich in Erscheinung, da sie durch die C.B.H. nicht mehr überlagert wurde. Das wichtigste Untersuchungsmerkmal betraf jedoch die infiltrierende Zellart. Es handelte sich bei der C.B.H. um basophile Granulocyten, die aus dem Blut stammten. Mononucleäre Zellen waren nicht vorhanden. Makroskopisch zeigte sich ein stark ausgeprägtes Erythem mit geringer Infiltration. (DVORAK und MIHM, 1972)

1.5 Der Mechanismus der zellulären Immunantwort - bisher vorliegende Ergebnisse

Aufgrund einer großen Zahl von Experimenten kann heute nicht mehr an der Existenz der spezifisch sensibilisierten oder antideterminierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) gezweifelt werden. (MILLER et al, 1962; ARNASON et al, 1964; REIF und ALLEN, 1964; FUKASE, 1966; COE et al, 1966; MILLER und OSOBA, 1967; DAVIES et al, 1967; WEINER et al, 1967; STEFFEN, 1968; MEUWISSEN et al, 1969; RAFF, 1969; WILLIAMS und WAKSMAN, 1969; HEISE und WEISER, 1970; ASHERSON und ZEMBALA, 1970; CEROTTINI, 1971; BRUNNER et al, 1971; HUMPHREY und WHITE, 1971 u.a.) Im Bereich ihrer Zellmembran befindliche spezifitätsbestimmende Rezeptoren gestatten ihnen, am Ort des Antigendepots spezifisch mit dem Antigen in Reaktion zu treten, das ihre Bildung veranlaßt hat. (SCHLOSSMAN und LEVINE, 1967; SULITZEANU, 1968; BACH, 1971)

In Übereinstimmung mit diesem Konzept konzentrierten sich die Bemühungen darauf, die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten zu identifizieren und zu charakterisieren. Dies schien entweder in den regionalen, d.h. in den das Antigendepot drainierenden Lymphknoten oder im Bereich des Antigendepots (im Reaktionsbereich) möglich zu sein. Im Bestreben, die Effektorzellen zu identifizieren, ging PRENDERGAST (1964) unter Verwendung der Transplantatabstoßungsreaktion - im Experiment können alle Manifestationen der zellulären Immunantwort herangezogen werden, da sie alle auf dem gleichen Mechanismus beruhen und somit, von belanglosen Unterschieden abgesehen, alle das gleiche, für sie charakteristische histologische Bild aufweisen - folgendermaßen vor: Zunächst führte er bei einem Kaninchen an einem Ohr eine gestielte Hauttransplantation durch. Es handelte sich um ein Allotransplantat. Im Anschluß daran wurden dem Empfängertier am anderen Ohr noch zwei Trans-

plantate verabreicht. Das eine stammte von demselben, das andere von einem anderen Donor. Das gestielte Transplantat erhielt während der dem Eingriff folgenden drei Tage mehrere ^3H -Thymidin-Injektionen. Dadurch wurde erreicht, daß die proliferierenden lymphoiden Blasten in den das gestielte Transplantat drainierenden Lymphknoten und damit die aus ihnen entstehenden kleinen Lymphocyten den markierten Baustein der DNS aufnahmen und somit identifizierbar wurden. Die histologische Untersuchung der drei in Abstoßung begriffenen Transplantate erbrachte ein überraschendes Ergebnis: Im Reaktionsbereich aller drei Transplantate befanden sich gleichermaßen ca. 3 % markierte kleine Lymphocyten. Ca. 97 % erwiesen sich als nicht markiert. Besonders auffällig war jedoch, daß sich die markierten kleinen Lymphocyten nicht vorwiegend in den zwei vom gleichen Spender stammenden Transplantatsabstoßungsbereichen versammelten, gegen die sie als spezifische Effektorzellen gerichtet sein sollten, sondern ebenso im dritten Transplantatabstoßungsbereich (von einem verschiedenen Donor stammend), gegen das sie nicht gerichtet sein sollten, zu finden waren und somit offenbar eine Gleichverteilung im Organismus anstrebten. Zu gleichen Ergebnissen gelangten TURK (1962) und TURK und OORT (1963, 1970) beim passiven Transfer der Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein durch intravenöse Transfusion von Lymphocyten sensibilisierter Meerschweinchen auf syngenetische normale Empfängertiere. Die zum passiven Transfer verwendeten Lymphocyten stammten aus den das Antigendepot (intradermale Injektion von Mykobakterien) drainierenden Lymphknoten, aus dem Blut sowie aus dem Exsudat der unspezifisch gereizten Bauchhöhle. Wenn ein Lymphocyten-donor vom 2. - 6. Tag nach der Sensibilisierung eine ^3H -Thymidin-Injektion 24 Stunden vor der Gewinnung der Lymphocyten erhielt, so wurden noch genug lymphoide Blasten in den paracorticalen Bezirken der das Antigendepot drainierenden Lymphknoten

markiert, aus denen durch weitere Teilung und Differenzierung kleine Lymphocyten hervorgingen. Es mußte darauf geachtet werden, daß das ^3H -Thymidin genau an der Hautstelle injiziert wurde, an der die sensibilisierende Antigenzufuhr erfolgte. Nur dann stand diese Substanz nahezu vollständig den proliferierenden lymphoiden Blasten und ihren teilungsfähigen Nachkommen zur Verfügung. Die markierten kleinen Lymphocyten machten ca. 40 % der Lymphocyten aus, die dem Empfänger injiziert wurden. Am Ort der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp erwiesen sich jedoch nur maximal ca. 3 % der kleinen Lymphocyten als markiert. Häufig lagen die Werte unter 3 % (0,1 - 3 %). Lediglich kleine Lymphocyten aus den ein Antigen depot drainierenden Lymphknoten konnten Manifestationen der zellulären Immunantwort unter der Bedingung passiv übertragen, daß in ihren paracorticalen Bezirken vorher die antigeninduzierte Proliferation lymphoider Blasten stattgefunden hatte. Wurde gegen ein bestimmtes Antigen eine spezifische Immuntoleranz herbeigeführt, so blieb bei Zufuhr des Tolerogens die Lymphocytenproliferation im regionalen Lymphknoten aus. Hauttestungen und passive Transfers blieben ohne Erfolg. (TURK und OORT, 1970) Aufgrund ihrer eigenen und der von PRENDERGAST (1964) erhobenen Befunde gelangten TURK und OORT (1970) zu folgender Ansicht:

1. Die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten werden als Ergebnis des antigenen Stimulus in den das Antigen depot drainierenden Lymphknoten gebildet und gelangen zum Ort des Antigen depots, um dort, indem sie mit dem Antigen spezifisch in Reaktion treten, die entsprechende Manifestation der zellulären Immunantwort einzuleiten.
2. Aufgrund der Markierungsstudien muß angenommen werden, daß nur wenige kleine Lymphocyten, die sich im Reaktionsbereich (am Ort des Antigen depots) einer Manifestation der zellulären Immunantwort, beispielsweise einer cuta-

nen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein, befinden, spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten sind.

3. Nicht jeder kleine Lymphocyt, der als Ergebnis des antigenen Stimulus in den ein Antigendepot drainierenden Lymphknoten entsteht, ist ein Nachfahre des klonal proliferierenden antigenstimulierten "sensitiven" kleinen Lymphocyten und damit ein spezifisch sensibilisierter kleiner Lymphocyt (Effektorzelle). Anders läßt sich das Versuchsergebnis von PRENDERGAST (1964) nicht interpretieren. Es scheint vielmehr so zu sein, daß ein großer Teil der proliferierenden lymphoiden Blasten einer unspezifischen Lymphocytenpopulation angehört, die in Verbindung mit den "sensibilisierten" Blasten proliferiert, welche die direkten Nachkommen des antigenstimulierten "sensitiven" kleinen Lymphocyten sind. Nach TURK und OORT (1970) könnten die spezifisch sensibilisierten Blasten einen mitogenen Faktor produzieren, der die Zellen der Nachbarschaft zur Proliferation zwingt, ohne daß dabei spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) produziert werden.

TURK und POLAK (1967) wählten in ihren Versuchen zur Identifizierung der Effektorzellen auf morphologischer Ebene - histologische Untersuchung des Reaktionsbereiches, um eventuelle Unterschiede in der Morphologie der daselbst befindlichen kleinen Lymphocyten zu erkennen - die Immunphänomene der Kontakt- und Tuberkulin-Überempfindlichkeit. Durch ein- oder mehrmaliges Auftragen von Oxazolone auf die dorsale Seite eines Ohres erzeugten die Autoren bei Meeresschweinchen eine Kontaktüberempfindlichkeit gegen diese Substanz. Eine andere Tiergruppe erhielt abgetötete Mykobakterien (*Mykobakterium humanum*, Stamm H 37 Ra) in Freund's komplettem Adjuvans intradermal. Die Injektionen erfolgten im Nacken- und Oberschenkelbereich. Am 5. - 6. Tag nach der Sensibilisierung konnte durch intradermale

Injektion von Tuberkuloprotein (PPD) eine lokale Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp (Tuberkulin-Reaktion) und durch Auftragen von Oxazolon auf eine beliebige Hautstelle der Tiere eine Ekzemreaktion ausgelöst werden. Vom 1. - 5. Tag nach der sensibilisierenden Antigenzufuhr erhielten beide Tiergruppen mehrere intradermale Injektionen von ^3H -Thymin genau an den Hautstellen, an denen das Antigen bzw. das Hapten injiziert bzw. aufgetragen wurde. Gleichzeitig wurden die das Antigendepot drainierenden (regionalen) Lymphknoten und solche, die das Antigendepot nicht drainierten (entfernte Lymphknoten) histologisch und autoradiographisch untersucht. Ferner gelangte das Exsudat der gereizten Bauchhöhlen zur Untersuchung. Mit dieser Methode fanden die Autoren, daß nur die ein Antigendepot drainierenden Lymphknoten markierte pyroninophile Blasten aufwiesen. Aus ihnen gingen durch weitere Zellteilung und Differenzierung kleine Lymphocyten hervor. In den vom Antigendepot entfernten Lymphknoten ließ sich keine Lymphocytenproliferation in den paracorticalen Bezirken nachweisen. Die (markierten) kleinen Lymphocyten, die sich unter dem Einfluß des Antigens in den drainierenden Lymphknoten gebildet hatten, befanden sich nun auch in den paracorticalen Arealen der Milz und der entfernten Lymphknoten, im Blut sowie im gesamten Rezirkulationsraum des Organismus und gelangten in die Bauchhöhle der Versuchstiere. Zahlreich waren sie in der Bauchhöhle anwesend, wenn diese unspezifisch gereizt wurde. Peritonealexsudatzellsuspensionen, die markierte kleine Lymphocyten enthielten, konnten die Kontaktüberempfindlichkeit oder die Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein passiv übertragen. Die Lymphocyten des Bauchhöhlenexsudates wurden nun von den Makrophagen abgetrennt, so daß eine reine Lymphocytensuspension zur Verfügung stand. Nur die kleinen Lymphocyten waren in der Lage, die genannten Manifestationen der zellulären Immunantwort passiv auf normale Tiere zu übertragen. Mit

diesen Versuchen ließ sich ebenfalls nachweisen, daß kleine Lymphocyten als Folge des antigenen Stimulus in den ein Antigendepot drainierenden Lymphknoten neu entstehen, daß sich unter ihnen die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) befinden und diese an den Ort des Antigendepots gelangen. Histologische und cytologisch-autoradiographische Studien an kleinen Lymphocyten, die TURK und POLAK (1967) bei den gleichen Versuchstieren an den ein Antigendepot drainierenden Lymphknoten in der Proliferationsphase, im Bereich des Antigendepots (peripherer Reaktionsbereich) sowie an den kleinen Lymphocyten der unspezifisch gereizten Bauchhöhle anstellten, haben leider auf morphologischer Ebene nicht zur Identifizierung der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten geführt. Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß bisher kaum Untersuchungen in dieser Richtung vorliegen.

STEFFEN und ROSAK (1962) haben ein anderes Konzept für die Identifizierung der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten entwickelt, das zwar nicht zum Ziel führte. jedoch der Vollständigkeit halber erwähnt werden soll. Sie gingen von folgender Voraussetzung aus: Wenn zwischen den Effektorzellen und dem Antigen eine spezifische Reaktionsbeziehung - ähnlich wie zwischen Antikörper und Antigen - besteht, dann müßte sich die Effektorzelle und das Antigen zu einem relativ stabilen Reaktionsprodukt vereinigen können. Solchen Antigenbindungsstudien, die mit verschiedenen Techniken durchgeführt wurden, war kein Erfolg beschieden. Zwischen der sog. Basisadsorption, das ist die Adsorption des Antigens (an die Lymphocytenoberfläche) durch kleine Lymphocyten unbehandelter Kontrolltiere und der Adsorption des spezifischen Antigens durch kleine Lymphocyten von sensibilisierten Tieren traten niemals signifikante Unterschiede auf, die im Sinne der spezifischen Antigenbindung an Effektorzellen hätten gedeutet werden können.

(TURK, 1960; GILLISSEN, 1963; KAY und RIEKE, 1963; WITTEN et al, 1963; MARTINS et al, 1964; PELTIER und KOURILSKI, 1966; FEDERLIN, 1968, HJORT, 1968; HAAS et al, 1970; Übersicht s. BLOOM, 1971)

In jüngster Zeit entwickelten BLOOM, JIMINEZ und MARKUS (1970) eine neue Methode, die zwar nicht die Identifizierung der Effektorzellen auf morphologischer Ebene gestattet, jedoch ihre Zahl in einem sensibilisierten Organismus zu erfassen scheint. Ausgangspunkt war die Beobachtung, daß kleine Lymphocyten bestimmte DNS- und RNS-Viren nicht replizieren können. (EDELMAN und WHELOCK, 1966). Die Stimulierung kleiner Lymphocyten von sensibilisierten Tieren mit Phytohämagglutinin (PHA) oder dem spezifischen Antigen ermöglichte dagegen die Replizierung folgender Viren: Echo-Viren, Polio-Viren, Mumps-, Masern- und Vesicular-Stomatitis-Viren. (BLOOM und JIMINEZ, 1970) Zur Erkennung und Zählung der Viren replizierenden kleinen Lymphocyten arbeiteten BLOOM, JIMINEZ und MARKUS (1970) einen Plaque-Test aus. In den Versuchen wurden kleine Lymphocyten des Blutes von Meerschweinchen verwendet, bei denen man durch intradermale Injektionen von BCG oder abgetöteten virulenten Tuberkelbakterien in Freund's komplettem Adjuvans eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein erzeugt hatte. Ferner gelangten Blutlymphocyten von Menschen zur Untersuchung, die eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein aufwiesen. Die Lymphocyten wurden in An- und Abwesenheit von Tuberkulin (PPD) in vitro inkubiert. Während der Zellkultivierung erfolgte keine Zugabe des Testvirus. Erst nach Beendigung der Inkubation setzte man den Kulturen das Testvirus zu, entfernte nach einer bestimmten Einwirkungszeit durch Waschen die überschüssigen Viren und brachte schließlich die kleinen Lymphocyten aus monolayer-Kulturen von L-Zellen (Mäuselungenfibroblasten) zur Erzielung des Plaque-Effektes. Das Virus diente lediglich als Indikator, um die Effektorzellen, d.h.

die Zahl der kleinen Lymphocyten festzustellen, die durch die Kontaktaufnahme mit dem spezifischen Antigen Veränderungen auf molekularer Ebene erfahren und auf Grund dieser Veränderungen die Befähigung zur Virusreplizierung erworben hatten. Bei Meerschweinchen kam man zu folgenden Ergebnissen: Nach einer Inkubationsdauer von 24 Stunden betrug die Zahl der kleinen Lymphocyten, die Viren produzierten, ca. 1 auf 1000 Zellen. Nach 4 Tage dauernder Kultivierung mit dem spezifischen Antigen erhöhte sich die Zahl der kleinen Lymphocyten, die Viren produzierten, auf ca. 20 auf 1000 Zellen. Die Kontrollen (Blutlymphocytenkulturen sensibilisierter Tiere ohne Antigen) zeigten keine Reaktion. (BLOOM et al, 1970; BLOOM und JIMINEZ, 1970) Im folgenden sensibilisierten BLOOM, JIMINEZ und MARKUS, 1970) Meerschweinchen mit PPD in Aluminiumhydroxid derart, daß sie nur molekulare Antikörper gegen PPD bildeten. Blutlymphocytenkulturen dieser Meerschweinchen wurden mit PPD versetzt, um auf diese Weise in vitro eine Sekundärantwort gegen PPD auszulösen. Nach verschiedenen Inkubationszeiten setzten die Autoren das Indikatorvirus hinzu und testeten dieses System auf Viren replizierende Zellen. Es zeigte sich, daß Antikörper bildende Zellen und ihre Vorstufen keine Viren replizierten. Das Viren replizierende System korrelierte nur mit der zellulären Immunantwort. Die Zahl der beobachteten Plaques war lediglich von der Lymphocytenzahl in der Kultur abhängig und unabhängig von dem Virus, das zur Identifizierung der plaquebildenden kleinen Lymphocyten verwendet wurde. Blutlymphocytenkulturen, die von gesunden Menschen mit einer Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein stammten, enthielten nach 4 Tagen dauernder Inkubation mit PPD ca. 5 plaquebildende kleine Lymphocyten auf 1000 Zellen. Die Zahl der plaquebildenden kleinen Lymphocyten erwies sich in diesem System als unabhängig von der Inkubationsdauer. (BLOOM et al, 1969; JIMINEZ et al, 1971) Mitoseinhibitoren wie Vinblastin, Colchizin u.a.

hatten keinen Einfluß auf die Zahl der Viren produzierenden kleinen Lymphocyten. (BLOOM, 1971) Die Zahl der plaquebildenden kleinen Lymphocyten blieb auch dann konstant, wenn die Kulturen Vinblastin in so hoher Dosierung erhielten, daß kein ^3H -Thymidin inkorporiert und somit jegliche Mitosetätigkeit unterbunden wurde. (BLOOM, 1971) Nach Ansicht der Autoren hat sich das "Virus-Plaque-System" daher als geeignet erwiesen, die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten wenigstens im Hinblick auf ihr zahlenmäßiges Auftreten zu erfassen. Darüber hinaus zeigten die Versuche, daß die Zahl der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten, die gegen ein bestimmtes Antigen gerichtet sind, in der Größenordnung von 5 - 20 Effektorzellen auf 1.000 kleine Lymphocyten liegt. Da kleine Lymphocyten nicht sensibilisierter und nicht antigenstimulierter sensibilisierter Tiere keine Viren replizieren, kann es sich nach Ansicht der Autoren bei den replizierenden Zellen um das Endprodukt der klonalen Proliferation und terminalen Differenzierung eines antigenstimulierten "sensitiven" kleinen Lymphocyten handeln. Es muß schließlich zur Kenntnis genommen werden, daß 5 - 20 spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) auf 1.000 kleine Lymphocyten eine hohe Zellzahl mit spezifischer Antidetermination gegen ein bestimmtes Antigen sind. Zugleich erfährt die Ansicht von TURK und OORT (1970) eine vorläufige Bestätigung, wonach die im Reaktionsbereich einer Manifestation der zellulären Immunantwort sichtbaren kleinen Lymphocyten nur zum geringen Teil spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten sind.

Ein neuer Ansatzpunkt zur Aufklärung des Mechanismus der zellulären Immunantwort bot sich, als es gelang, eine ganze Reihe biogener Stoffe - zunächst als "Faktoren" und neuerdings als "Lymphokine" (WOLSTENKROFF, 1971) bezeichnet - nachzuweisen, die bei der Inkubation von Lymphocyten sen-

sibilisierter Tiere mit dem spezifischen Antigen in das Kulturmedium abgegeben werden und die aufgrund ihrer biologischen Wirkungen als Mediatoren der zellulären Immunantwort angesehen wurden. Weitere Untersuchungen ergaben, daß Lymphokine Proteine unterschiedlichen Molekulargewichtes, jedoch keine Immunglobuline sind. (BLOOM und BENNETT, 1970; LAMELIN, 1971) Im folgenden seien die wichtigsten Lymphokine genannt und, soweit möglich, kurz charakterisiert.

a) Faktoren, die auf mononucleäre Phagocyten wirken

- 1) Migration-inhibition factor for mononuclear phagocytes. (MIF)
- 2) Chemotactic factor for mononuclear phagocytes
- 3) Macrophage aggregation factor

b) Faktoren, die auf Fremdzellen und Fremdgewebe wirken

- 4) Lymphotoxin (LT) oder cytotoxic factor
- 5) Proliferation inhibitory factor
- 6) Inhibitor of DNA-synthesis (IDS)

c) Faktoren, die auf kleine Lymphocyten wirken

- 7) Mitogenic factor oder lymphocyte transforming factor
- 8) Blastogenic factor
- 9) Potentiating factor

d) Faktoren, die in der Haut normaler (nicht sensibilisierter) Meerschweinchen eine entzündungsfördernde Wirkung besitzen

- 10) Skin-reactive factor (SRF)

e) Weitere Faktoren

- 11) Interferon
- 12) Transfer factor
- 13) Stimulator of platelet histamin release
- 14) Macrophage activating Material ?

Beim "MIGRATION-INHIBITION FACTOR" (MIF) handelt es sich um ein in bezug auf seine Struktur noch nicht identifiziertes Protein, dessen Molekulargewicht, je nach dem angewendeten Isolierungsverfahren, mit 50.000 bis 70.000 D ange-

geben wird. (BENNETT und BLOOM, 1968, 1970; DAVID, 1968; DUMONDE et al, 1969; BLOOM und JIMINEZ., 1970; YOSHIDA und REISFELD, 1970; BLOOM, 1971)

Die Wirkung des MIF in-vitro besteht darin, daß er die amöboide Beweglichkeit der mononucleären Phagocyten hemmt, sie jedoch nicht regressiv beeinflußt. (BLOOM und BENNETT, 1968; LOLEKHA et al, 1970) Zur Demonstration dieses Effektes haben GEORGE und VAUGHAN (1962) die oft angewendete Kapillarröhrchen-Kulturmethode entwickelt. Mononucleäre Phagocyten stellen die einzigen Effektorzellen für den MIF dar. (DAVID, 1969, 1970)

Aufgrund folgender Ergebnisse darf der Migrationshemmtest als ein in-vitro-Korrelat der zellulären Immunantwort aufgefaßt werden:

1. Nur die Inkubation kleiner Lymphocyten (Lymphknoten-, Blut- und Peritonealexsudatlymphocyten) von Tieren, bei denen eine zelluläre Immunantwort herbeigeführt wurde, mit dem spezifischen Antigen führte zur Liberation des MIF. Jedes andere als das spezifische Antigen erwies sich in dieser Hinsicht als erfolglos. (DAVID, 1964, 1966) Dabei wurde ausgeschlossen, daß sich Immunglobuline, deren Spezifität gegen das zur Induktion der zellulären Immunantwort verwendete Antigen gerichtet war, und Antikörper bildende Zellen sowie ihre Vorstufen in der Lymphocytenkultur befanden.
2. Die mononucleären Phagocyten stellten lediglich die Effektorzellen für den MIF dar. Deshalb war es egal, ob die Makrophagen (Peritonealexsudatmakrophagen) vom sensibilisierten oder von einem nicht sensibilisierten Tier stammten. Die kleinen Lymphocyten erwiesen sich einwandfrei als die Träger der immunologischen Information.
3. Das Migrationshemmungsphänomen konnte bei allen Manifestationen der zellulären Immunantwort und mit den verschiedensten Antigenen ausgelöst werden. (Übersicht

s. BLOOM, 1971; LAMELIN, 1971)

Der MIF wird frühestens am 6. Inkubationstag (in Gegenwart des spezifischen Antigens) in das Kulturmedium abgegeben und ca. 4 Tage kontinuierlich produziert. (DAVID, 1966; BENNETT und BLOOM, 1967; BLOOM, 1971) Es wird vermutet, daß der MIF nicht präformiert vorliegt, sondern de novo synthetisiert wird. Der Faktor wirkt schon in sehr geringer Konzentration; er besitzt eine hohe biologische Aktivität. Ein Inkubationsverhältnis von 1 % kleinen Lymphocyten sensibilisierter Tiere zu 99 % Makrophagen führte in Gegenwart des spezifischen Antigens zur Migrationshemmung. (DAVID et al, 1964)

Für die Gewinnung des MIF haben sich kleine Lymphocyten des Peritonealexsudates, des Blutes und der ein Antigen-depot drainierenden Lymphknoten als besonders geeignet erwiesen. (BENNETT, 1966; DAVID, 1966; BARTFELD und KELLY, 1968; THOR et al, 1968)

Die Produktion des MIF konnte vollständig blockiert werden, wenn kleinen Lymphocyten sensibilisierter Tiere in Gegenwart des spezifischen Antigens Actinomycin D, Mitomycin C oder Puromycin zugesetzt wurde. (BLOOM et al, 1964; DAVID, 1965; BLOOM und CHASE, 1967; BLOOM, 1971)

Der "CHEMOTACTIC FACTOR FOR MONONUCLEAR PHAGOCYTES" ist ein Protein, dessen Molekulargewicht ca. 50.000 D beträgt. Die biologische Wirkung und die bisher zur Kenntnis gelangten physiko-chemischen Eigenschaften dieses Faktors weichen von denen des MIF ab, d.h. es handelt sich um zwei verschiedene Proteine. (WARD et al, 1969, 1970) Er wirkt nur auf mononucleäre Phagocyten. Neutrophile Granulocyten werden durch ihn nicht beeinflusst.

LOLEKHA et al (1970) beobachteten, daß Peritonealexsudatmakrophagen in-vitro aggregierten, wenn ihnen Lymphokine enthaltende Supernatants zugesetzt wurden. Die Autoren

machten einen Faktor für diesen Effekt verantwortlich, den sie als "MACROPHAGE-AGGREGATION FACTOR" bezeichneten. Bisher konnte nicht geklärt werden, ob der MAF einen selbständigen Faktor darstellt oder ob es sich um eine Wirkung des MIF handelt.

Als "LYMPHOTOXIN" (LT) ist ein zuerst von RUDDLE und WAKSMAN (1967) beschriebenes Lymphokin bekannt geworden. Die cytotoxische Wirkung dieses Faktors erstreckt sich konzentrationsabhängig auf alle Zellen höherer Organismen. (WILLIAMS und GRANGER, 1969; GRANGER, 1971; Übersicht s. BLOOM, 1971) Eine Ausnahme machen lediglich die kleinen Lymphocyten selbst. (GRANGER, 1971) Sie scheinen gegenüber der Wirkung des Lymphotoxins ziemlich unempfindlich zu sein. Die Freisetzung des Lymphotoxins gehorcht immunologischen Gesetzmäßigkeiten. (GRANGER et al, 1969)

Beim Lymphotoxin handelt es sich ebenfalls um ein Protein, dessen Molekulargewicht je nach der Tierspecies, von der es gewonnen wird, mit 80.000 bis 150.000 D angegeben wird. (GRANGER, 1970; KOLB und GRANGER, 1970) Der Faktor läßt sich eindeutig von den anderen Lymphokinen abgrenzen. (BLOOM, 1971)

Bis zur Nachweisbarkeit cytotoxischer Aktivität in Supernatants vergehen mindestens 6 Stunden nach der Zugabe des spezifischen Antigens zu den Kulturlymphocyten. (WILLIAMS und GRANGER, 1968; PINCUS et al, 1970) Durch Zugabe von Stoffwechsellinhibitoren wie DNP, Cycloheximid, Puromycin, Hydrocortison u.a. zu den Kulturen läßt sich die Freisetzung des Lymphotoxins verhindern. (WILLIAMS und GRANGER, 1969)

Der "INHIBITOR OF DNA-SYNTHESIS" (IDS), ein Protein, dessen Molekulargewicht ca. 10.000 D beträgt, hemmt die Inkorporation von ^3H -Thymidin und damit die DNA-Neusynthese (Zellteilung) von Gewebekulturzellen. (SMITH et al, 1970)

Der "MITOGENIC FACTOR" oder "LYMPHOCYTE TRANSFORMING FACTOR" bewirkt bei kleinen Lymphocyten speziesgleicher,

nicht sensibilisierter Spendertiere Blastentransformation mit anschließender Zellteilung (DUMONDE et al, 1967; BENNETT und BLOOM, 1968; VALENTINE und LAWRENCE, 1969; WOLSTENCROFT und DUMONDE, 1970; WOLSTENCROFT, 1971) Nach VALENTINE und LAWRENCE (1969) bedarf der mitogenic factor, um wirksam zu sein, der Anwesenheit des spezifischen Antigens. Derartige Beobachtungen liegen auch für andere Faktoren vor.

Als "SKIN REACTIVE FACTOR" (SRF) wird ein Lymphokin bezeichnet, das in der Haut normaler Meerschweinchen eine entzündliche Reaktion (mononucleäres Infiltrat) hervorruft, wie es für eine cutane Überempfindlichkeitsreaktion von Spättyp typisch ist. (PINCUS, 1967; DUMONDE, 1968; BLOOM und BENNETT, 1969; KREJCI et al, 1969; PICK et al, 1969, 1970; WOLSTENCROFT und DUMONDE, 1970) Aufgrund der Untersuchungen von PICK et al (1970) handelt es sich auch beim SRF um ein distinktes Lymphokin.

Im Zusammenhang mit dem Thema der vorliegenden Arbeit hat das "MACROPHAGE ACTIVATING MATERIAL" (s. WOLSTENCROFT, 1971) von besonderem Interesse. Für die Existenz eines solchen Faktors liegt bisher kein Hinweis vor.

Weitere Untersuchungen über die Lymphokine haben jedoch ergeben, daß diese Proteine aufgrund einer Lymphocytenstimulierung durch verschiedene Mechanismen liberiert werden. Ferner ist die Freisetzung der Lymphokine nicht auf kleine Lymphocyten von Versuchstieren beschränkt, bei denen eine zelluläre Immunantwort induziert wurde. Antigen-Antikörper-Komplexe der Klasse G, nicht jedoch der Klasse M sind ebenfalls befähigt, aus kleinen Lymphocyten nicht sensibilisierter Tiere Lymphokine freizusetzen. Komplement oder Komplementkomponenten werden dafür nicht benötigt. (PICK et al, 1972; PICK und TURK, 1972) Auch durch Phytohemagglutinin (PHA) lassen sich kleine Lymphocyten von Tieren zur Abgabe von Lymphokinen stimulieren, die drei Wochen vor der Ge-

winnung der Zellen eine intradermale Injektion von Freund's kompletten Adjuvans (FCA) erhalten hatten. (PICK et al, 1970) Diese Beobachtungen kommen nicht unvermutet, wenn man folgende Befunde kennt: Antigen-Antikörper-Komplexe binden sich zu 5 - 18 % in-vitro passiv an Meerschweinchenlymphocyten (UHR und PHILIPPS, 1966) Denaturiertes Ig G und Immunkomplexe besitzen eine spezielle Affinität für Keimzentrum-lymphocyten. (BROWN et al, 1970) Kürzlich beschrieben BIANCO et al (1970) eine Lymphocytenpopulation, die einen spezifischen Rezeptor für Antigen-Antikörper-Komplexe besitzt. Über die Bindung von Ig G durch Blutlymphocyten und Milzzellen normaler Tiere in Abwesenheit von Komplement wurde kürzlich berichtet. Es fanden sich Hinweise, daß sich diese Lymphocyten vom Thymus ableiten. (BROWN et al, 1970) Komplexe von löslichen und particulären Antigenen mit den spezifischen Antikörpern erwiesen sich als befähigt, die DNS-Synthese bei kleinen Lymphocyten von normalen Meerschweinchen auszulösen. (BLOCHSHTACHER et al, 1968; MOLLER, 1969) Targetzell-Antikörperkomplexe können bei normalen, nicht sensibilisierten Lymphocyten ein cytotoxisches Potential induzieren. (PERLMAN und HOLM, 1969)

In jüngster Zeit ließ sich jedoch einwandfrei feststellen, daß Lymphokine auch unter den spezifischen Bedingungen der zellulären Immunantwort - d.h. unter Bedingungen, bei denen nur eine zelluläre Immunantwort nachweisbar war oder auf experimentellem Wege spezifische Immunglobuline, die gegen das Antigen gerichtet waren, das zur Induktion der zellulären Immunantwort Verwendung fand, eliminiert wurden - aus kleinen Lymphocyten freigesetzt werden. (UHR et al, 1957; DAVID et al, 1964; BLOOM und BENNETT, 1966; RICCI et al, 1969; BOREL und DAVID, 1970; MARCUS, 1970 zit. n. BLOOM, 1971; PICK et al, 1972; PICK und TURK, 1972) Die Aufklärung dieses Mechanismus ließ auf Einblicke in den zellulären Immunmechanismus hoffen. Deshalb führten PICK

et al (1972) und PICK und TURK (1972) Experimente durch, die der Klärung folgender Fragen dienen sollten:

1. Wie kommt es unter den spezifischen Bedingungen der zellulären Immunantwort zur Freisetzung der Lymphokine?
2. Werden Lymphokine, die von kleinen Lymphocyten sensibilisierter Tiere bei Kontakt mit dem spezifischen Antigen liberiert werden, nur von Zellen produziert, die mit dem Antigen reagiert haben oder sind auch "non-committed" Lymphocyten an der Faktorenfreisetzung beteiligt?

Bereits PICK et al (1970) fanden, daß die Liberation von Lymphokinen keine spezifische Fähigkeit von kleinen Lymphocyten sensibilisierter Tiere ist, sondern daß auch kleine Lymphocyten normaler Tiere (keine Induktion einer zellulären Immunantwort), die in-vitro mit Phytohämagglutinin (PHA) und anderen Substanzen dieser Art inkubiert wurden, Lymphokine freisetzen. Die physikochemischen Eigenschaften der Faktoren, die als Ergebnis einer antigenspezifischen Stimulierung von Lymphocyten sensibilisierter Tiere und einer antigenunspezifischen (mitogeninduzierten) Stimulierung von Lymphocyten nicht sensibilisierter Tiere liberiert wurden, erwiesen sich als identisch. Ihre Freisetzung konnte durch dieselben Agentien blockiert werden. (PICK et al, 1970 a, b) Deshalb erhob sich die Frage, ob die Zelle, die die Lymphokine freisetzt, identisch ist mit der, die spezifisch mit dem Antigen Kontakt aufnimmt oder ob es sich um einen 2-Zell-Kooperationsmechanismus handelt, in dem "non-committed" Lymphocyten für die Liberation der Lymphokine verantwortlich sind als sekundäres Ereignis nach der Kontaktaufnahme der spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) mit dem spezifischen Antigen.

Ein geeignetes Testsystem wurde im SCR (sheep red blood cells)-System gefunden. Da es sich um ein particuläres Antigen handelte, konnte es nach der Inkubation mit den

Lymphocyten aus dem Kulturmedium entfernt werden und unter anderem der Klärung der Frage dienen, ob die Anwesenheit des spezifischen Antigens Voraussetzungen für die histologische Wirksamkeit der Lymphokine ist. Bei Verwendung löslicher Antigene konnte diese Frage nicht entschieden werden, da lösliche Antigene nicht aus dem Kulturmedium zu entfernen sind.

PICK und TURK (1972) verabreichten Meerschweinchen SRC (sheep red blood cells) in FCA (Freunds komplettes Adjuvans) intradermal und erzeugten damit bei den Tieren eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen SRC, die, wie Hautteste ergaben, am 7. Tag nach der sensibilisierenden SRC/FCA-Injektion auftrat. Vom 7. bis zum 13. Tag nach der Sensibilisierung konnte durch intradermale Injektion von SRC eine reine, klassische Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp an der Haut ausgelöst werden. Vom 14. Tag an und später wiesen die Tiere dagegen eine gemische Reaktion auf, wenn sie dem Hauttest unterworfen wurden. Eine Arthus-Reaktion (Soforttyp-Reaktion) überlagerte die Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. In Übereinstimmung mit diesem Befund ließen sich jetzt im Serum agglutinierende und hämolysierende Antikörper der Klasse G gegen SRC nachweisen. Drei Wochen nach der sensibilisierenden Antigenzufuhr - die Tiere zeigten bei der Hauttestung (0,1 ml einer 10 % SCR-Suspension r.d.) eine gemischte Reaktion - gewannen die Autoren Lymphknotenlymphocyten (LNC) aus den das Antigendepot drainierenden Lymphknoten sowie Peritonealexsudatlymphocyten (PEL) nach unspezifischer Reizung der Bauchhöhle für die in-vitro Kultur (Immunlymphocyten). Durch verschiedene Prozeduren (s. PICK und TURK, 1972) entfernten sie sorgfältig alle antikörperbildende Zellen sowie ihre Vorstufen und die frei vorliegenden spezifischen Immunglobuline gegen SRC aus den Kulturen. Besondere Beachtung wurde der Anwesenheit von cytophilien Antikörpern geschenkt. Nur in den Lymphknoten-zellkulturen befanden sich einige antikörperbildende Zellen

und geringe Mengen an molekularen Antikörpern gegen SRC. Die Peritonealexsudatlymphocytenkulturen waren durchweg frei von den genannten Elementen. Ferner wurden Lymphknoten- und Peritonealexsudatlymphocyten von Meerschweinchen gewonnen, die drei Wochen davor lediglich eine Injektion von FCA intradermal erhalten hatten. ("non-immune"-Lymphocyten)

Die Immunlymphocyten (LNC und PEL von gegen SRC/FCA sensibilisierten Tieren stammend; im Hauttest gemischte Reaktion) kultivierten die Untersucher 24 Stunden mit SRC. Danach trennten sie die Lymphocyten unter Wahrung steriler Bedingungen mittels eines Millipore-Filters ab, dessen Poren für SRC, nicht jedoch für Lymphocyten durchgängig waren. Im Anschluß daran erfolgte die Abzentrifugierung der im Filtrat rein enthaltenen SRC, der ein Waschvorgang und die Resuspension in frischem Kulturmedium folgte. Nun gelangten "non-immune"-Lymphocyten (PEL und LNC von Tieren, denen nur FCA injiziert wurde) mit den SRC zur Inkubation, die 24 Stunden mit Immunlymphocyten (PEL und LNC von Tieren, die SRC/FCA erhielten und die eine Überempfindlichkeit vom Spätyp gegen SRC entwickelt hatten) präinkubiert wurden. Die auf diese Weise vorbehandelten SRC waren in der Lage, "non-immune"-Lymphocyten zur Freisetzung von Lymphokinen - getestet wurde auf Anwesenheit von MIF und SRF - zu veranlassen. SRC, die mit "non-immune"-Lymphocyten anstatt mit Immunlymphocyten 24 Stunden inkubiert wurden, waren bei anschließender Inkubation mit "non-immune"-Lymphocyten nicht befähigt, die letzteren zur Lymphokinfreisetzung zu stimulieren. Das Versuchsergebnis ließ folgende Deutung zu:

1. Nach allen bisher erhaltenen Untersuchungsergebnissen muß gefolgert werden, daß die "Immunlymphocyten" spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) gegen SRC enthalten, die mit dem Antigen (SRC) spezifisch in Reaktion treten.

2. Das Antigen (SRC) muß durch die spezifische Kontaktaufnahme mit den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten eine Veränderung erfahren haben, die es nunmehr zur Lymphokinfreisetzung aus "non-immune"-Lymphocyten befähigt.

Die folgenden Versuche dienten dazu, etwas über die Veränderungen in Erfahrung zu bringen, die das Antigen durch den Kontakt mit dem "Immunlymphocyten" erfahren hatte und die die SRC nunmehr dazu befähigten, aus "non-immune"-Lymphocyten Lymphokine freizusetzen. Die Autoren kultivierten Immunlymphocyten 24 Stunden ohne SRC. Das zellfreie Supernatant unterzogen sie einer Gelfiltration an Sephadex G-200 Säulen. Sie erhielten 2 Fraktionen (peak I und II); es wurde streng auf die Abwesenheit jeglicher molekularer Antikörper gegen SRC geachtet. Die Fraktionen I und II wurden nun getrennt kurzzeitig mit SRC inkubiert. Im Anschluß daran erfolgte die Abzentrifugierung der auf diese Weise vorbehandelten SRC und nach einem Waschvorgang die Inkubation derselben für 24 Stunden mit "non-immune"-Lymphocyten. Es zeigte sich, daß "non-immune"-Lymphocyten (PEL und LNC), die mit der Fraktion I inkubiert wurden, Lymphokine - MIF und SRF - liberierten. Die Fraktion II erwies sich im Hinblick auf die Freisetzung der Lymphokine als erfolglos. Dasselbe war der Fall, wenn zellfreie Supernatants von "non-immune"-Lymphocyten anstatt von Immunlymphocyten verwendet wurden. Daraus folgerten die Autoren:

1. Aufgrund des Antigenkontaktes muß von den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten eine Substanz freigesetzt worden sein, die mit dem Antigen (SRC) komplexiert. In geringem Maße wird diese Substanz auch bei der in-vitro-Inkubation von Immunlymphocyten ohne Zugabe des spezifischen Antigens ins Kulturmedium abgegeben, sehr viel schneller und intensiver jedoch auf spezifischen Antigenkontakt hin. (PICK und TURK, 1972)

2. Bemerkenswert ist die hohe Bindungsfähigkeit dieser Substanz für das spezifische Antigen, wenngleich sie keine Antigenspezifität im Sinne der molekularen Antikörper aufzuweisen scheint. PICK und TURK (1972) bezeichnen sie daher als "Antikörper-ähnliches Produkt" (A-A-P).
3. Der Lymphokinfreisetzung unter den spezifischen Bedingungen der zellulären Immunantwort liegt ein 2-Zell-Kooperationsmechanismus zugrunde.

Die bisher geschilderten Ergebnisse lassen weiterhin den Schluß zu, daß "non-immune" oder "non-committed"-Lymphocyten Lymphokine freisetzen, wenn sie mit Antigen-Antikörper-Komplexen der Klasse G oder mit "Immunlymphocyten" (von Tieren stammend, bei denen eine zelluläre Immunantwort induziert wurde und somit Effektorzellen enthaltend) in Gegenwart des spezifischen Antigens inkubiert werden. Dabei wirkt der Antigen-Antikörper-Komplex oder ein Komplex aus dem Antigen und einem antikörperartigen Produkt, das von den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten aufgrund der Kontaktaufnahme mit dem spezifischen Antigen abgegeben wird und das sich unverzüglich an das Antigen bindet, auf die "non-immune"-Lymphocyten ein, so daß sie zur Liberation von Lymphokinen befähigt werden. PICK et al (1969) vermuteten daher, daß zellvermittelte Immunreaktionen in-vivo durch die progressive Akkumulation von Lymphokinen am Ort der Immunlymphocyten-Antigen-Interaktion (spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten und "non-committed"-Lymphocyten enthaltend) zustande kommen. Deshalb war es von Interesse herauszufinden, ob ein Antigen, das in-vitro dem Kontakt mit dem spezifischen Antikörper oder Immunlymphocyten (Komplexbildung des Antigens mit dem von den Effektorzellen auf den Antigenkontakt hin abgegebenen antikörper-ähnlichen Produktes) ausgesetzt wurde, befähigt ist, bei intradermaler Zufuhr in die Haut normaler Meer-schweinchen eine Entzündungsreaktion hervorzurufen. SRC wurden in-vitro mit spezifischen Antikörpern der Klassen

M und G beladen (antibody coating), so daß die entsprechenden Antigen-Antikörper-Komplexe entstehen. Ferner gelangten SRC für 24 Stunden mit Immunlymphocyten zur Inkubation und im Anschluß daran wurden die SRC, wie beschrieben, isoliert. Nun erhielten normale (nicht sensibilisierte) Meerschweinchen jeweils 0,1 ml einer SRC-Suspension (einmal SRC-IgM, einmal SRC-IgG und schließlich durch die Inkubation mit Immunlymphocyten "sensibilisierte" SRC) intradermal injiziert. Die Injektionsstellen wurden nach 4, 24 und 48 Stunden betrachtet und histologisch untersucht. Sog. "frühe Reaktionen" (gering ausgeprägtes, vorwiegend mononucleäres Infiltrat; Maximum nach 4, nach 24 Stunden geschwunden) waren bei den Tieren festzustellen, die Antigen-Antikörper-Komplexe der Klasse G erhalten hatten. Antigen-IgM-Komplexe zeigten keine verwertbare Reaktion. Demgegenüber wiesen die Tiere, die "sensibilisierte" SRC (SRC, an die durch Kontakt mit Immunlymphocyten das antikörperähnliche Produkt gebunden war) bekommen hatten, eine klassische Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp mit dem für sie typischen zeitlichen Ablauf und dem entsprechenden histologischen Bild auf. Wurden SRC mit "non-immune"-Lymphocyten anstatt mit Immunlymphocyten inkubiert und diese anschließend normalen Meerschweinchen intradermal injiziert, so traten, abgesehen von unspezifischen Reaktionen, keine Reaktionen auf. In diesem Zusammenhang zeigten BLASCOVEC und SCHEGIK (1970), daß Überempfindlichkeitsreaktionen gegen verschiedene Antigene eine frühe und eine späte Komponente besitzen. Die frühe Komponente wäre demnach auf molekulare Antikörper der Klasse G zurückzuführen, die gleichzeitig gegen das Antigen gebildet werden, das für die Induktion der zellulären Immunantwort verwendet wurde. Die späte Komponente stellt die eigentliche Manifestation der zellulären Immunantwort dar. Aufgrund dieses Versuchsergebnisses erscheinen folgende Schlüsse berechtigt:

1. Es müssen spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) existieren, die mit dem spezifischen Antigen in Reaktion treten. Als Folge des Immunzell-Antigen-Kontaktes werden "non-committed"-Lymphocyten zur Freisetzung von Lymphokinen stimuliert.
2. Es ergeben sich Hinweise, daß neben den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) eine spezielle (non-committed), zur Synthese von Lymphokinen befähigte Lymphocytenspecies vorhanden ist und benötigt wird.
3. Bei dem geschilderten Reaktionsablauf dürfte es sich um den zellulären oder zellvermittelten Immunmechanismus handeln.

Aufgrund der Gesamtheit der Versuchsergebnisse darf angenommen werden, daß zellvermittelte Immunreaktionen nach einem 4-Stufen-Mechanismus ablaufen, der spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten, "non-committed"-Lymphocyten und mononucleäre Phagocyten (Monocyten und freie Makrophagen) einschließt:

1. Das Antigen stimuliert eine begrenzte, im Reaktionsbereich (Antigendepot) befindliche Zahl von spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) zur Synthese des antikörperartigen Produktes, indem es mit den genannten Zellen spezifisch in Reaktion tritt. Beim antikörperartigen Produkt handelt es sich nicht um molekulare Antikörper. (PICK und TURK, 1972)
2. Das antikörperartige Produkt geht mit dem Antigen einen stabilen Komplex ein. Dabei bleibt es unklar, ob das antikörperartige Produkt, wie die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten, aus denen es stammt, einen spezifischen Bindungsbereich für das Antigen aufweist.
3. Die gebildeten Komplexe, bestehend aus Antigen und antikörperartigem Produkt, nehmen mit den "non-committed"-Lymphocyten Kontakt auf und stimulieren sie zur Synthese

von Lymphokinen. Möglicherweise erfahren die "non-committed"-Lymphocyten dabei eine blastenartige Gestaltwandlung. (PICK und TURK, 1972) Bei den als "non-committed"-Lymphocyten bezeichneten Zellen handelt es sich nach neuesten Erkenntnissen um eine spezielle Lymphocytenspezies, die zur Produktion der Lymphokine befähigt ist, auf den antigenen Stimulus hin zusammen mit den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) in den das Antigendepot drainierenden Lymphknoten gebildet wird, zuerst, d.h. vor den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten an den Ort des Antigendepots gelangt und damit die Rolle des "Wegbereiters" für die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten übernimmt. Sie dürften die ersten Zellen sein, die an den Ort des Antigendepots gelangen. Zur Synthese von Lymphokinen werden sie jedoch erst dann stimuliert, wenn sie Kontakt mit Komplexen aufgenommen haben, die aus dem Antigen und dem antikörperähnlichen Produkt bestehen. (MC. GREGOR et al, 1970; KOSTER und MC. GREGOR, 1971 a, b, ; PICK und TURK, 1972)

4. Die Lymphokine mit ihren vielfältigen biologischen Wirkungen führen zur morphologischen Ausprägung der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Dasselbe gilt für die morphologischen und funktionellen Belange der anderen Manifestationen der zellulären Immunantwort.

Die Ausführungen haben ferner ergeben, daß Lymphokine nicht als die Mediatoren der zellulären Immunantwort betrachtet werden können, da sie aufgrund verschiedener stimulierender Mechanismen von "non-committed"-Lymphocyten gebildet werden. (Übersicht s. BLOOM, 1971) Dennoch scheinen sie die morphologischen und funktionellen Gegebenheiten bei den einzelnen Manifestationen der zellulären Immunantwort ursächlich zu bedingen. Deshalb dürfen sie wohl mit Recht als Wirkstoffe der zellulären Immunantwort bezeichnet werden.

Als Mediator der zellulären Immunantwort ist neben den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) das antikörperartige Produkt zu nennen, das die Liberation der Lymphokine so steuert, daß die zeitlichen, morphologischen und funktionellen Besonderheiten dieser Immunantwort ihre volle Ausprägung finden.

Aufgabe des MIF ist es, die Monocyten am Reaktionsort (Ort des Antigendepots) festzuhalten, nachdem diese durch den MACROPHAGE CHEMOTACTIC FACTOR an den Reaktionsort gelockt worden sind. Ohne Faktoren mit cytotoxischer Wirkung wären die Transplantatabstoßung und tumorimmunologische Phänomene nicht denkbar. Die auf Lymphocyten wirkenden Faktoren scheinen nach Art eines Multiplikationsprozesses für die schnelle Einbeziehung weiterer Lymphocyten in die Faktorenproduktion vonnöten zu sein.

Das 4-Stufen-Schema, das zur Zeit die beste Erklärung für den Mechanismus der zellulären Immunantwort bietet, bezieht die mononucleären Phagocyten mit ein. Es sagt jedoch nichts über die Rolle der mononucleären Phagocyten im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp und im Reaktionsbereich der anderen Manifestationen der zellulären Immunantwort aus. Insbesondere ist nichts darüber ausgesagt, ob der genannten Zellart eine essentielle Rolle im zellulären Immunmechanismus zukommt.

1.6 Welchen Einfluß haben die mononucleären Phagocyten auf das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus?

Die folgenden Ausführungen beschäftigen sich mit der Frage, welchen Einfluß die mononucleären Phagocyten (Monocyten und freie Makrophagen) auf das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus haben. Es ist zu klären, ob diese Zellen, die im Gegensatz zu den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) nach dem heutigen Stand der Erkenntnis keine immunologische Information tragen, als essentiell für das Zustandekommen der genannten Manifestationen der zellulären Immunantwort anzusehen sind.

Das voll ausgeprägte histologische Bild der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp zeigt ein charakteristisches, aus kleinen Lymphocyten und mononucleären Phagocyten zusammengesetztes Infiltrat im Bereich des Antigendepots. (CELL und HINDE, 1951; GOWANS et al, 1962; KOSUNEN und DVORAK, 1963; KOSUNEN et al, 1963; WAKSMAN, 1965; ISACOVIC et al, 1965; COHEN et al, 1967; LUBAROFF und WAKSMAN, 1967, 1968) Als erste Zellart infiltrieren kleine Lymphocyten das Antigendepot. (DESAGA et al, 1970; DVORAK et al, 1971) Bald darauf sammeln sich Monocyten im Reaktionsbereich an. Sie stammen, wie auch an anderer Stelle ausführlich dargestellt wurde, aus dem Knochenmark und gelangen mit dem Blutstrom zum Antigendepot. (VOLKMAN und GOWANS, 1965 a, b; LUBAROFF und WAKSMAN, 1967, 1968; VOLKMAN und COLLINS, 1968; v. FURTH, 1969; MACKANESS, 1969) Ihre Ansammlung im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp geht auf die antigeninduzierte Lymphokinproduktion zurück. (Wirkung des migration-inhibition-factor und des chemotatic factor for mononuclear phagocytes) Die Monocyten im Reaktions-

Als Mediator der zellulären Immunantwort ist neben den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) das antikörperartige Produkt zu nennen, das die Liberation der Lymphokine so steuert, daß die zeitlichen, morphologischen und funktionellen Besonderheiten dieser Immunantwort ihre volle Ausprägung finden.

Aufgabe des MIF ist es, die Monocyten am Reaktionsort (Ort des Antigendepots) festzuhalten, nachdem diese durch den MACROPHAGE CHEMOTACTIC FACTOR an den Reaktionsort reloctet worden sind. Ohne Faktoren mit cytotoxischer Wirkung wären die Transplantatabstoßung und tumorimmunologische Phänomene nicht denkbar. Die auf Lymphocyten wirkenden Faktoren scheinen nach Art eines Multiplikationsprozesses für die schnelle Einbeziehung weiterer Lymphocyten in die Faktorenproduktion vonnöten zu sein.

Das 4-Stufen-Schema, das zur Zeit die beste Erklärung für den Mechanismus der zellulären Immunantwort bietet, bezieht die mononucleären Phagocyten mit ein. Es sagt jedoch nichts über die Rolle der mononucleären Phagocyten im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp und im Reaktionsbereich der anderen Manifestationen der zellulären Immunantwort aus. Insbesondere ist nichts darüber ausgesagt, ob der genannten Zellart eine essentielle Rolle im zellulären Immunmechanismus zukommt.

1.6 Welchen Einfluß haben die mononucleären Phagocyten auf das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus?

Die folgenden Ausführungen beschäftigen sich mit der Frage, welchen Einfluß die mononucleären Phagocyten (Monocyten und freie Makrophagen) auf das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus haben. Es ist zu klären, ob diese Zellen, die im Gegensatz zu den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) nach dem heutigen Stand der Erkenntnis keine immunologische Information tragen, als essentiell für das Zustandekommen der genannten Manifestationen der zellulären Immunantwort anzusehen sind.

Das voll ausgeprägte histologische Bild der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp zeigt ein charakteristisches, aus kleinen Lymphocyten und mononucleären Phagocyten zusammengesetztes Infiltrat im Bereich des Antigendepots. (GELL und HINDE, 1951; GOWANS et al, 1962; KOSUNEN und DVORAK, 1963; KOSUNEN et al, 1963; WAKSMAN, 1965; ISACOVIC et al, 1965; COHEN et al, 1967; LUBAROFF und WAKSMAN, 1967, 1968) Als erste Zellart infiltrieren kleine Lymphocyten das Antigendepot. (DESAGA et al, 1970; DVORAK et al, 1971) Bald darauf sammeln sich Monocyten im Reaktionsbereich an. Sie stammen, wie auch an anderer Stelle ausführlich dargestellt wurde, aus dem Knochenmark und gelangen mit dem Blutstrom zum Antigendepot. (VOLKMAN und GOWANS, 1965 a, b; LUBAROFF und WAKSMAN, 1967, 1968; VOLKMAN und COLLINS, 1968; v. FURTH, 1969; MACKANESS, 1969) Ihre Ansammlung im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp geht auf die antigeninduzierte Lymphokinproduktion zurück. (Wirkung des migration-inhibition-factor und des chemotactic factor for mononuclear phagocytes) Die Monocyten im Reaktions-

bereich transformieren sich schließlich zu aktivierten freien Makrophagen. (DANNENBERG, 1968; JOHN, 1968) auf dem Höhepunkt der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp liegen fast alle aus dem Gefäßsystem eingewanderten Monocyten als aktivierte freie Makrophagen vor. (DANNENBERG, 1968)

Einige Autoren vertraten schon früh die Ansicht, daß die Monocyten eine *conditio sine qua non* für das Zustandekommen der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp sind. (MCCLUSKEY et al, 1963; PRENDERGAST, 1964; COHEN et al, 1967) In jüngster Zeit gelangten deshalb bestimmte Verfahren mit dem Ziel zur Anwendung, die mononucleären Phagocyten auf der Ebene der Monocyten oder der freien Makrophagen in zuvor sensibilisierten Tieren nach Möglichkeit zu eliminieren oder funktionsunfähig zu machen. Die vorbehandelten Tiere wurden dann dem Hauttest unterworfen. Ganzkörperröntgenbestrahlung erwies sich als eine geeignete Methode, die Monocytenvorstufen im Knochenmark je nach der verabreichten Strahlendosis reversibel oder irreversibel zu schädigen, so daß keine Monocyten produziert werden konnten und somit dem Organismus nicht zur Verfügung standen. (VOLKMAN und GOWANS, 1965 a, b; VOLKMAN und COLLINS, 1968; LUBAROFF und WAKSMAN, 1967, 1968; SPECTOR und RYAN, 1969; MACKANESS, 1969) COE et al (1966) sowie VOLKMAN und MC. GREGOR (unveröffentlichte Ergebnisse zit. n. MACKANESS, 1969) induzierten bei Inzuchtratten eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegen Henneneieralbumin (HEA) und Kaninchengammaglobulin (RGG). Eine cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegen die genannten Proteinantigene ließ sich frühestens am 6. Tag nach der Sensibilisierung auslösen. Während der Sensibilisierungsperiode gewannen die Autoren Ductus thoracicus-Lymphocyten und infundierten sie normalen syngenetischen Tieren in Dosen von $1 - 5 \times 10^8$ Zellen pro Tier. Im Anschluß daran bei den Rezipienten vorgenommene Hauttestungen mit HEA

und RGG führten cutane Überempfindlichkeitsreaktionen vom Spättyp herbei. Wurden jedoch normale Tiere 30 Minuten vor der Lymphocytentransfusion mit 550 r bestrahlt, so gelang es nicht mehr, cutane Überempfindlichkeitsreaktionen vom Spättyp gegen HEA und RGG hervorzurufen. Mit diesem Versuch erbrachten die Autoren den Nachweis, daß die cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem (passiv) sensibilisierten Organismus unterdrückbar ist und lieferten Hinweise dafür, daß der Empfängerorganismus einen Beitrag leisten muß zum Zustandekommen der genannten Reaktion. Durch die Bestrahlung war er dazu nicht mehr imstande. Beide Arbeitsgruppen führten die Unterdrückung der cutanen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp bei den passiv sensibilisierten Tieren auf die Strahlenschädigung der Monocytenvorstufen im Knochenmark zurück. LUBAROFF und WAKSMAN (1960, 1967, 1968 a, b) lieferten die noch fehlenden Informationen. Sie fanden, daß thymektomierte und mit 900 r ganzkörperbestrahlte Ratten, die passiv gegen Tuberkulin (PPD) sensibilisiert wurden, nur dann eine cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp entwickelten, wenn ihnen gleichzeitig mit oder kurz vor der Lymphocyteninfusion Monocytenvorstufen enthaltendes Knochenmark von nicht sensibilisierten Tieren infundiert wurde. Monocyten bzw. gereinigte Peritonealexsudatmakrophagen erwiesen sich als die einzige Zellart, die die Reaktivität im passiv sensibilisierten Organismus wiederherstellen konnte. Wurden nur Monocyten und keine von sensibilisierten Tieren stammenden Lymphocyten infundiert, so war ebenfalls keine Reaktion festzustellen, da die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen), die durch Kontaktaufnahme mit dem spezifischen Antigen die Reaktion starteten, fehlten. Unter Berücksichtigung der gesicherten Monocytenentstehung im Knochenmark folgerten die Autoren, daß die Monocyten essentiell für das Zustandekommen der cutanen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp verantwortlich sind. COCHRANE

(1967) sowie VOLKMAN und COLLINS (1968) kommen zu folgenden Ergebnissen: Innerhalb von 24 Stunden nach einer Ganzkörperbestrahlung von 400 r verloren sensibilisierte Mäuse und Meerschweinchen ihre Reaktivität gegenüber Tuberkulin, behielten jedoch Arthus-Reaktivität. Zu diesem Zeitpunkt waren die Monocytenwerte im Blut stark, die Lymphocytenwerte mäßig und die Granulocytenwerte kaum abgefallen. Wenn jedoch 8 Tage nach der Bestrahlung die Granulocytenwerte ihren niedrigsten Stand erreicht hatten und Arthus-Reaktivität nicht mehr auslösbar war, hatte sich infolge Erholung der Monocytenvorläufer im Knochenmark ein bestimmter Grad verzögerter Reaktivität wieder eingestellt. VOLKMAN und COLLINS (1968) stellten eine Korrelation zwischen dem Verschwinden der verzögerten Hautreaktivität und dem nach der Bestrahlung erfolgten Monocytensturz im Blutstrom fest. Aufgrund der Bestimmung des initialen Markierungsindex der Monocyten im Blut und im Reaktionsbereich konnten die Autoren ferner den ungefähren Zeitpunkt des Regenerationsbeginns der Monocytenvorstufen im Knochenmark bestimmen. Gleichzeitig wurde das Wiederauftreten der verzögerten Reaktivität registriert. Es stellte sich weiterhin heraus, daß die Lymphocyten weniger strahlensensibel als die Monocytenvorstufen im Knochenmark sind.

Ein anderes Verfahren, die mononucleären Phagocyten in einem zuvor sensibilisierten Organismus funktionsunfähig zu machen bzw. zu zerstören, besteht in der Anwendung von Anti-Makrophagen-Serum. (AMS) AMS wird durch Heterosensibilisierung mit gereinigten Peritonealexsudatmakrophagen gewonnen und bezüglich der Wirkung durch mehrfache Absorption an Lymphocyten und andere Blutzellen spezifisch auf die Zerstörung der mononucleären Phagocyten ausgerichtet. Genügend gereinigtes AMS wirkt nur auf Monocyten und freie Makrophagen des peripheren Gewebes, denn die genannten Zellen gehören einer Zelllinie an und besitzen dieselben Membranantigene. Das Antiserum führt bei den mononucleären Phagocyten zur

Phagocytosehemmung, agglutiniert sie, wenn sie in genügender Menge vorhanden sind und lysiert sie schließlich unter Mitwirkung von Komplement. Die wirksamen Bestandteile des AMS sind molekulare Antikörper der Klasse G, die aus dem Gefäßssystem in das Gewebe gelangen und somit nicht nur auf die Blutmonocyten, sondern auch auf die freien Makrophagen des Gewebes wirken. (GALLILY und GORNOSTANSKY, 1972) Über die Wirksamkeit des AMS auf die Monocytenvorstufen im Knochenmark ist bisher nichts bekannt.

HEISE und WEISER (1970) erzeugten bei Meerschweinchen eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein (PPD). 2 Tage vor der Hauttestung bekamen die in Versuch genommenen Tiere je 1,0 ml AMS. Als Kriterium einer genügend hohen Dosierung des AMS diente die Zahl der Alveolarmakrophagen, die durch Lungenspülung mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnen werden konnten. In der angegebenen Dosierung waren kaum mehr Alveolarmakrophagen in der Spülflüssigkeit zu finden. Bei den mit AMS behandelten Tieren ließ sich die cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren um ca. 50 % (als Beurteilungsgrundlage diente der Durchmesser des Infiltrates) abschwächen. Die Behandlung sensibilisierter Meerschweinchen mit ALS (Anti-Lymphocyten-Serum) in der angegebenen Dosierung und unter sonst gleichen Bedingungen führte zur völligen Unterdrückung der Tuberkulin-Reaktion. FELDMAN und UNANUE (1971), die ihre Versuche mit AMS ebenfalls an Meerschweinchen durchführten, bei denen sie eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein (PPD) und BSA (bovine serum albumin) herbeigeführt hatten, sahen im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen nur eine geringe Abschwächung der cutanen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Die Tiere erhielten 4 Tage vor der Durchführung der Hauttestis je 0,5 ml AMS. Titerangaben als Maß für die wirksame Antikörperkonzentration des Serums machten die Autoren nicht. Jedoch gelang es ihnen, den passiven Transfer der Überem-

pfindlichkeit vom Spättyp gegen PPD und BSA auf nicht sensibilisierte, bestrahlte Meerschweinchen mit AMS in der oben angegebenen Dosierung vollständig zu unterdrücken. Den Tieren wurde eine bestimmte Zahl von Lymphknotenlymphocyten und Monocyten und deren Vorstufen enthaltendes Knochenmark infundiert. Beide Arbeitsgruppen deuteten ihre Versuchsergebnisse mit der Annahme, daß die Dosierung des AMS zu niedrig gewesen sei und daher temporär keine völlige Zerstörung der mononucleären Phagocyten herbeigeführt werden konnte. Darüber hinaus schien es nicht gelungen zu sein, deren Bereitstellung im Knochenmark zu unterbinden. Die verabreichte AMS-Dosis reichte dagegen aus, die passiv übertragenen Monocyten in den bestrahlten Tieren zu zerstören und damit die cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp gegen PPD und BSA zu unterbinden. BOROS und WARREN (1971) stellten in Kenntnis der bestehenden Schwierigkeiten ein hochtitriges AMS her und injizierten das Serum den in Versuch genommen Tieren in hoher Dosierung. Sie erzeugten bei Mäusen eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Eier der Species *Schistosoma mansoni*. Die sensibilisierende Injektion verabreichten sie intraperitoneal. Eine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp führten die Autoren herbei, indem sie den Tieren Eier der genannten Species in eine der Schwanzvenen injizierten. Mit dem Blutstrom gelangten die Eier dann in die Lungenkapillaren, wo sie infolge ungleicher Größenverhältnisse hafteten und im umgebenden Gewebe eine typische Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp hervorriefen. Um die Intensität der Reaktion feststellen zu können, wurden die entfernten Lungen histologisch aufgearbeitet (Anfertigung von Serienschnitten) und die Durchmesser der Infiltrate gemessen. Die Überempfindlichen Tiere wurden nun 6 Tage hintereinander mit 0,25 ml AMS, definierten hohen Titers, intravenös behandelt. Am 7. Tag erhielten sie das Antigen intravenös. Im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren konnte eine Abschwächung des Infiltrates bis

auf 20 % des Ausgangswertes erreicht werden. Eine völlige Unterdrückung der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp mit AMS gelang nicht, wohl aber mit ALS (Anti-Lymphocyten-Serum) in niedrigerer Dosierung. Durch die AMS-Behandlung wurden die Blutmonocyten bis auf 0,6 % ihres Ausgangswertes (100 %) vermindert. Bei der histologischen Untersuchung der Infiltrate fiel jedoch auf, daß - wenn auch in geringer Zahl - noch Monocyten im Reaktionsbereich anwesend waren und sich zu aktivierten freien Makrophagen transformierten. Es wurde gefolgert, daß AMS wohl auch in hoher Dosierung die Bereitstellung der Monocyten nicht völlig unterdrücken kann. Die geschilderten Versuche in ihrer Gesamtheit zeigten jedoch, daß die Anwesenheit der Monocyten für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in der Tat eine *conditio sine qua non* ist.

Ohne die Bereitstellung der Monocyten durch das Knochenmark und die Anwesenheit derselben im Reaktionsbereich gibt es keine klassische Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Es erhebt sich jedoch die Frage, ob die Monocyten als solche für das Zustandekommen der genannten Reaktion unentbehrlich sind. In letzter Zeit haben sich nämlich Hinweise dafür ergeben, daß der transformierte Monocyt, d.h. der aktivierte freie Makrophage im Reaktionsbereich die wirksame Zelle ist. (MACKANESS, 1969) Demzufolge muß für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus nicht nur die Anwesenheit der Monocyten, sondern auch die Transformation derselben zu aktivierten freien Makrophagen und ihre noch zu klärende Funktion daselbst gesichert sein. Dies steht in Übereinstimmung mit der Beobachtung, daß der Höhepunkt (maximale morphologische Ausprägung) der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp erst dann erreicht wird, wenn sich alle im Reaktionsbereich befindlichen Monocyten zu aktivierten freien Makrophagen transformiert haben. (DANNENBERG,

1968; COHN, 1968) Während die notwendige Anwesenheit der Monocyten im Reaktionsbereich als Vorbedingung aufgrund der Experimente mit AMS und der Bestrahlungsversuche genügend gesichert erscheint, liegen bisher kaum Hinweise dafür vor, wie es zur Transformation der Monocyten im Reaktionsbereich kommt und welche Funktion die aktivierten freien Makrophagen für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp haben. Schließlich ist zu fragen, ob es sich um eine essentielle Funktion in bezug auf das Zustandekommen der genannten Manifestation der zellulären Immunantwort handelt.

In der vorliegenden Arbeit wird deshalb der Versuch unternommen, durch ein sog. "R.E.S.-Blockadeexperiment" (ASCHOFF, 1924) eine temporäre Funktionsstörung bzw. den Funktionsausfall der intensiv phagocytierenden mononucleären Phagocyten herbeizuführen und damit unter Anwendung einer älteren Methode einen Beitrag zur Frage nach der Bedeutung der genannten Zellart für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp zu leisten. Es soll geklärt werden, durch welchen Mechanismus es zur Transformation der Monocyten zu aktivierten freien Makrophagen im Reaktionsbereich kommt, d.h. wie sie in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden. Weiterhin ist herauszufinden, welche Funktion die aktivierten freien Makrophagen im Reaktionsbereich ausüben und ob diese essentiell ist für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Darüberhinaus wird die Frage nach der Bedeutung der mononucleären Phagocyten für die morphologischen und insbesondere für die funktionellen Gegebenheiten bei den anderen Manifestationen der zellulären Immunantwort gestellt.

2. Material und Methoden

Der Versuch wurde an 33 ausgewachsenen, weiblichen Meerschweinchen durchgeführt, deren Ausgangsgewicht zwischen 400 und 650 g lag. Es handelte sich um genetisch nicht definiertes Tiermaterial. Je 10 Tiere bildeten eine Versuchstiergruppe I und II; je 5 Tiere formierten die dazugehörigen Kontrolltiergruppen I und II. Die restlichen 3 Meerschweinchen dienten als negative Kontrolltiere. Im übrigen brachte es die Versuchsanordnung mit sich, daß beide Kontrolltiergruppen als eine einzige Kontrolltiergruppe zu ebenfalls 10 Tieren für jede Versuchstiergruppe betrachtet werden konnte.

Sensibilisierung: Zur Herbeiführung der Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein erhielten 30 Tiere (die beiden Versuchs- und Kontrolltiergruppen) eine intradermale Injektion von 0,1 ml einer BCG-Aufschwemmung in den Bereich des rechten oder linken Oberschenkels. Die 3 als negative Kontrolle deklarierten Tiere erhielten keine BCG-Injektion. Zur Verwendung gelangte eine Aufschwemmung des BCG-Trockenimpfstoffes (BCG-Stamm "Schweden") der Behringwerke AG in physiologischer Kochsalzlösung, die in 0,1 ml mindestens 10^5 lebende BCG-Keime enthält. Bei lege artis durchgeführter intracutaner Injektion von 0,1 ml der BCG-Aufschwemmung entstand eine helle Quaddel von mindestens 8,0 mm Durchmesser an der Einstichstelle, die vorher durch eine elektrische Haarschneidemaschine von den Fellhaaren befreit und mit 60 % Propylalkohol desinfiziert worden war.

Zum Ausschluß einer eventuell schon bestehenden Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein wurden alle in Versuch genommenen 33 Meerschweinchen mit Tuberkulin GT der Behringwerke (Stärke 10) vorgetestet. Diese Maßnahme konnte ohne Gefahr für den eigentlichen Versuch erfolgen, da Tuber-

kulin GT im Sinne der Induktion einer Überempfindlichkeit vom Spättyp nicht antigen wirkt und somit eine Sensibilisierung der Tiere durch die Vortestung nicht zu befürchten war (persönliche Mitteilung der Behringwerke AG auf Anfrage; STEFFEN, 1968)

Als "Blockademittel" diente das Trypanblau pro injectione der Fa. Merck, Darmstadt, welches den 20 Tieren der Versuchstiergruppen I und II als 0,5 % V/v Lösung intraperitoneal und subcutan injiziert wurde. Dosierung: 30 mg/Kg Körpergewicht. Applikationsmodus: s. später. Die Farbstofflösung wurde unter Wahrung steriler Bedingungen frisch zubereitet und nicht länger als 6 Tage aufbewahrt. Die 10 Kontrolltiere erhielten statt dessen eine gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung in gleicher Applikation. Die negativen Kontrolltiere blieben ohne jede Behandlung. Mit der Verabfolgung des "Blockademittels" Trypanblau sollte versucht werden, durch Überladung der intensiv phagocytierenden und pinocytierenden mononucleären Phagocyten mit dem Farbstoff eine temporäre Funktionsstörung bzw. den völligen Funktionsausfall derselben herbeizuführen und nach Möglichkeit für die Versuchszeit aufrecht zu erhalten. Aus bestimmten, in der Diskussion näher zu erörternden Gründen gelangte Trypanblau als "Blockademittel" zur Anwendung. Bei der "Farbstoffblockierung" der mononucleären Phagocyten erschien eine möglichst schnelle, gleichmäßige und ausreichende Sättigung der genannten Zellen besonders wichtig, um eine nach der Überladung mit dem Farbstoff einsetzende regeneratorische Aktivität der im Knochenmark befindlichen Monocytenvorstufen nach Möglichkeit wirkungslos zu machen. Es wurde daher bei der Durchführung der "Blockade" eine erste Phase, in der die Summation von mehreren, kurz hintereinander erfolgenden Trypanblauinjektionen zu der gewünschten Überladung der im Gewebe befindlichen freien Makrophagen mit dem Farbstoff führt, sowie eine zweite Phase, in

der die Erhaltung des Farbstoffspiegels in den Geweben sichergestellt werden soll, unterschieden.

Hauttestung: Die Hauttestung der "blockierten" Versuchs- und der "nicht blockierten" Kontrolltiergruppen sowie der negativen Kontrolltiere erfolgte mit Tuberkulin GT der Behringwerke in den folgenden Stärken: Stärke 0,001; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 500 und 1.000. — Tuberkulin GT enthält die wirksamen Tuberkuloproteine in gereinigter Form. Zur Herstellung des Tuberkulin GT werden die Tuberkelbakterien auf synthetischem Nährboden 10 Wochen lang kultiviert. Nach Abtrennung und Abtötung der Keime erhält man das Tuberkulin GT durch Ausfällung. 1,0 mg des Trockenproduktes muß mindestens 50.000 Tuberkulineinheiten (T.E.) enthalten. Als Tuberkulin-Einheit ist aufgrund internationaler Vereinbarung die in 10^{-5} ml Standard-Alt-Tuberkulin enthaltene Menge an wirksamer Substanz definiert. Sie ist in 0,1 ml einer Alt-Tuberkulinverdünnung 1 : 10.000 enthalten. Die Herstellung von Alt-Tuberkulin erfolgt durch Züchtung von Mykobakterien in flüssigem Nährmedium, das neben Fleischextrakt auch noch Pepton enthält. Nach einer 10 Wochen langen Wachstumsperiode wird die Kultur abgetötet, die Keime abgetrennt und das Nährmedium 10 : 1 konzentriert. Dieses Konzentrat stellt das Alt-Tuberkulin dar, das nach der Auswertung auf 100.000 T.E./ml eingestellt wird.

Für das Tuberkulin GT (das in den Stärken 0,1; 1; 10; 100 und 1.000 hergestellt wird und im Handel erhältlich ist) gilt: 0,1 T.E. ist enthalten in 0,1 ml der Stärke 0,1; 1 T.E. ist enthalten in 0,1 und der Stärke 1; 10 T.E. sind enthalten in 0,1 ml der Stärke 10; 100 T.E. sind enthalten in 0,1 ml der Stärke 100 und 1.000 T.E. sind enthalten in 0,1 ml der Stärke 1.000. Das intracutan zu injizierende Testungsvolumen der jeweiligen Stärke beträgt 0,1 ml. — Wie bereits ausgeführt, sind die Stärken 0,1; 1; 10; 100

und 1.000 im Handel erhältlich. Die im Versuch außerdem verwendeten Stärken 0,001; 0,01 und 0,05, welche nach den obigen Ausführungen in bezug auf ihren Gehalt an wirksamer Substanz definiert sind, wurden durch Verdünnung der Stärke 0,1 im Verhältnis 1 : 100, 1 : 10 und 1 : 2 hergestellt. Durch Verdünnung der Stärken 1, 10, 100 und 1.000 im Verhältnis 1 : 2 kamen die Stärken 0,5; 5; 50 und 500 zustande. Zur Verwendung gelangten Großabfüllungen (Anstaltspackungen), die das Tuberkulin GT als Trockenprodukt enthalten und die in 5,0 ml Lösungsmittel, das den Packungen beiliegt, aufzulösen sind. Sie reichten demnach für 50 Hauttestungen aus. Da nur 33 Tiere zu testen waren, blieb genügend gelöstes Tuberkulin GT übrig, um eventuell nicht ordnungsgemäß durchgeführte Hauttestungen wiederholen zu können. Lediglich die Stärke 1.000 stand in sog. Normalabfüllungen (zu lösen in 1,0 ml Lösungsflüssigkeit) zur Verfügung. Bei der Hauttestung bewährte sich folgendes Vorgehen: Unmittelbar vor der Testung wurden die Fellhaare eines entsprechend großen Hautbezirkes möglichst vollständig abrasiert. Die Testung selbst, die in der intracutanen Injektion von 0,1 ml Tuberkulin der jeweiligen Stärke bestand, erfolgte im gesamten Rücken-, Bauch- und Halsbereich der Tiere. Dabei empfahl es sich zur besseren Beurteilung des Testungsergebnisses in genügender Entfernung von der Tuberkulinquaddel 0,1 ml der mitgelieferten "Kontrollflüssigkeit" in gleicher Weise zu injizieren. Schließlich wurden, um die Tuberkulinreaktion so aussagekräftig wie möglich machen zu können (Berücksichtigung möglicher lokaler Gegebenheiten) die Hauttestungen mit der gleichen Stärke bei den Tieren der verschiedenen Gruppen nach Möglichkeit in der gleichen Körperregion durchgeführt.

Beurteilung der Tuberkulinreaktion: Es wurde zwischen einer positiven und einer negativen Tuberkulinreaktion unterschieden. Als Kriterium für die positive Reaktion diente ein

sichtbares und tastbares Hautinfiltrat von mindestens 2,0 mm Durchmesser, das von einem ringförmigen Erythem umgeben sein mußte. Das Erythem durfte sich nicht über die Infiltratfläche erstrecken, sondern mußte am Rande des Infiltrates beginnen (Kokardreaktion). Alle anderen Veränderungen an der Tuberkulininjektionsstelle wurden als negative Reaktion beurteilt.

Als Bemessungsgrundlage für die Intensität der positiven Tuberkulinreaktion (Reaktionsintensität) diente, entsprechend den Angaben der Literatur (COLLINS und MACKANESS, 1970 a, b .), der Durchmesser des tastbaren und sichtbaren Infiltrates, gemessen in mm.

Für die Gesamtbeurteilung der Tuberkulinreaktion wurden folgende Symbole verwendet:

- = fehlendes Infiltrat. Tuberkulinreaktion negativ
- † = tastbares Infiltrat bis zu 2,0 mm Durchmesser und eben sichtbare Hautrötung, die sich über die gesamte Infiltratfläche erstreckt, d.h. es besteht kein das Infiltrat ringförmig umgebendes Erythem (keine Kokardreaktion). Beurteilung: Tuberkulinreaktion negativ
- + = tastbares Infiltrat, dessen Durchmesser zwischen 2,0 - 4,0 mm liegt und das ringförmig von einem Erythem umgeben ist. Beurteilung: Tuberkulinreaktion positiv. Reaktionsintensität: ein Kreuz
- ++ = tastbares Infiltrat, dessen Durchmesser zwischen 5,0 - 9,0 mm liegt und das ringförmig von einem Erythem umgeben ist (Kokardreaktion). Beurteilung: Tuberkulinreaktion positiv. Reaktionsintensität: zwei Kreuze
- +++ = tastbares Infiltrat, dessen Durchmesser über 9,0 mm liegt und das ringförmig von einem Erythem umgeben ist (Kokardreaktion). Beurteilung: Tuberkulinreaktion positiv. Reaktionsintensität: drei Kreuze.

Mit dieser Beurteilung sind die im Packungsprospekt angegebenen Empfehlungen der Behringwerke befolgt worden.

In der vorliegenden Arbeit wurde im einzelnen untersucht:

1. Die Konversionsschwelle. Das ist die Tuberkulinstärke, bei der die Reaktion von negativ nach positiv umschlägt.
2. Die Reaktionsintensität (Infiltratdurchmesser der positiven Tuberkulinreaktion) nach 24, 48 und 72 Stunden.
3. Das Verhalten der Reaktionsintensität in Abhängigkeit von der jeweiligen zur Hauttestung verwendeten Tuberkulinstärke.

Versuchsanordnung: Nach der Lieferung der Tiere wurden sie zur Gewöhnung an die neuen Verhältnisse eine Woche im Tierstall des Klinikums Westend gehalten. Während dieser und der gesamten Versuchszeit erhielten die Tiere Trockenfutter sowie tägliche Zulagen von Rüben, Obst, Kohl usw. Nach einer Woche - die Meerschweinchen hatten sich inzwischen gut eingelebt und an Gewicht zugenommen - erfolgte mit einer einfachen Balkenwaage die Bestimmung ihres Ausgangsgewichtes, das bei den beiden Versuchstiergruppen für die Dosierung des Trypanblaus zugrunde gelegt wurde. Jedes Tier erhielt nun zur Identifizierung eine nummerierte Ohrklemme und die einleitend erwähnten zwei Versuchstiergruppen zu je 10 Tieren sowie die zwei Kontrolltiergruppen zu je 5 Tieren wurden zusammengestellt. Die übrigbleibenden 3 Meerschweinchen dienten als negative Kontrolltiere. An ihnen sollte geprüft werden, ob die im Versuch nacheinander vorgenommenen Tuberkulintestungen zu irgendwelchen Veränderungen der Hautreaktivität führten, die die Testungsergebnisse bei den Versuchs- und Kontrolltieren mit Unsicherheitsfaktoren belastet hätten.

Die Versuchstiergruppe I (10 Tiere) erhielt am Tag nach der Wägung - es handelte sich um den ersten Versuchstag - 30 mg/Kg Trypanblau als 0,5 % wäßrige Lösung intraperito-

neal injiziert. Am 3. Versuchstag bekam die Versuchstiergruppe I wiederum eine Trypanblauinjektion gleicher Dosierung, die jedoch subcutan im Bereich des rechten oder linken Oberschenkels erfolgte. Bis zum 9. Versuchstag wurden subcutane und intraperitoneal alternierend insgesamt 5 Trypanblauinjektionen verabreicht. Die Kontrolltiergruppe I erhielt stattdessen physiologische Kochsalzlösung in gleicher Dosierung und Applikation. Die Versuchstier- und Kontrolltiergruppe II blieben während der ersten 9 Versuchstage ohne jede Behandlung und nahmen stetig an Gewicht zu. Das war bei den behandelten Versuchstiergruppe nicht der Fall. Jede Woche erfolgte eine Wägung aller 33 Tiere. Am 9. Versuchstag war bei den Tieren der Versuchstiergruppe I eine leichte Gewichtsabnahme festzustellen (s. Tabelle).

Am 10. Versuchstag erhielten 30 Tiere - die beiden Versuchs- und Kontrolltiergruppen - die BCG-Injektion in den rechten oder linken Oberschenkel. An der gleichen Hautstelle erfolgten bei den 10 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I zumindest eine oder zwei subcutane Trypanblauinjektionen. Die 3 negativen Kontrolltiere wurden nicht in der angegebenen Weise behandelt.

Nach der BCG-Injektion erhielt die Versuchstiergruppe I nur noch an jedem 3. anstatt an jedem 2. Tag eine intraperitoneale Trypanblauinjektion. Die Dosierung blieb unverändert. Bei der Kontrolltiergruppe I wurde entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verfahren. Die Versuchs- und Kontrolltiergruppe II blieben bis zum 26. Versuchstag ohne Behandlung.

Am 27. Versuchstag begann auch bei der Versuchsgruppe II die Behandlung mit Trypanblau in der angegebenen Dosierung. Die erste Injektion erfolgte intraperitoneal, die zweite am 29. Versuchstag subcutan, die dritte am 31. Versuchstag wiederum intraperitoneal usw. Es wurde darauf geachtet, daß die subcutanen Injektionen gleichmäßig über den gesam-

ten, für die Testung vorgesehenen Hautbereich, verteilt wurde. Nach 9 Tagen, am 35. Versuchstag, hatten die Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II ebenfalls 5 Injektionen erhalten. Die Kontrolltiergruppe II wurde mit physiologischer Kochsalzlösung in gleicher Dosierung und Applikation behandelt.

An dieser Stelle sei bemerkt, daß alle mit Trypanblau behandelten Tiere nach ca. 4 Stunden nach der ersten Trypanblauinjektion eine deutliche, blaue Verfärbung der Haut und der sichtbaren Schleimhäute aufwiesen. Die blaue Verfärbung verstärkte sich in den folgenden Tagen und Wochen.

Ferner entwickelte sich im Verlauf der der BCG-Impfung folgenden 14 Tage bis 3 Wochen ein ca. linsengroßes, bläuliches bis rotes Knötchen an der BCG-Injektionsstelle. Bei einigen Tieren kam es zu einer flachen Ulceration. Sie entstand nach der Abstoßung des Schorfes, der sich über dem Knötchen gebildet hatte. Die beschriebenen Gewebsdefekte heilten im Verlauf der nächsten 4 Wochen komplikationslos ab. Zudem waren sie unter den nachwachsenden Fellhaaren oft nicht mehr aufzufinden und entzogen sich so der weiteren Beobachtung.

Am 36. Versuchstag, d.h. 25 Tage nach der Sensibilisierung der beiden Versuchs- und Kontrolltiergruppen gegen Tuberkuloprotein, wurde die Hauttestung mit Tuberkulin GT bei allen 33 im Versuch stehenden Meerschweinchen durchgeführt. Begonnen wurde mit der Stärke 0,001, den Abschluß bildete die Testung mit der Stärke 1.000. Die Beobachtung der Reaktion sowie die Ausmessung des Infiltratdurchmessers erfolgten 24, 48 und 72 Stunden nach der intracutanen Injektion von 0,1 ml der jeweils zur Testung anstehenden Tuberkulinstärke. Nach Abschluß jeder Testung hatten die Meerschweinchen einen Tag Pause. Zur besseren Beurteilung der Tuberkulinreaktion erfolgte in angemessener Entfernung von der Tuberkulinquaddel die intracutane

Injektion von 0,1 ml der Kontrollflüssigkeit bei allen 33 Tieren. Die Hauttestungen sowie deren Beurteilungen dauerten vom 36. bis zum 94. Versuchstag. Die gesamte Versuchszeit betrug 94 Tage. Die 33 Meerschweinchen überstanden den Versuch bemerkenswert gut. Lediglich bei den Tieren der Versuchsgruppe I stellten sich zum Ende hin Intoxikationserscheinungen ein. Eine Woche nach der Beendigung des Versuches erfolgte die Tötung der Tiere. Wider Erwarten war zu diesem Zeitpunkt kein Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I verstorben. Es bestand eher der Eindruck, daß sie sich erholten.

Im folgenden ist die Versuchsanordnung tabellarisch wiedergegeben.

Tabelle 1: Versuchsanordnung

Versuchs- tag	Dosis und App- likationsart von Trypanblau	Kontrolltier- gruppe I	Dosis und App- likationsart von Trypanblau	Kontrolltier- gruppe II	Hauttestung aller Tiere mit Tuberku- lin GT (Stärke)
	Versuchstier- gruppe I		Versuchstier- gruppe II		
1	30 mg/Kg ip	Phys.NaCl ip	-	-	-
2	" " " sc	" " " sc	-	-	-
3	" " " ip	" " " ip	-	-	-
4	" " " sc	" " " sc	-	-	-
5	" " " ip	" " " ip	-	-	-
6	" " " sc	" " " sc	-	-	-
7	" " " ip	" " " ip	-	-	-
8	BCG	BCG	BCG	BCG	-
9					-
10					-
11					-
12	30 mg/Kg ip	Phys.NaCl ip	-	-	-
13	" " " ip	" " " ip	-	-	-
14	" " " ip	" " " ip	-	-	-
15	" " " ip	" " " ip	-	-	-
16	" " " ip	" " " ip	-	-	-
17	" " " ip	" " " ip	-	-	-
18	" " " ip	" " " ip	-	-	-
19	" " " ip	" " " ip	-	-	-
20	" " " ip	" " " ip	-	-	-
21	" " " ip	" " " ip	-	-	-
22	" " " ip	" " " ip	-	-	-
23	" " " ip	" " " ip	-	-	-
24	" " " ip	" " " ip	-	-	-
25	" " " ip	" " " ip	-	-	-
26			30 mg/Kg ip	Phys.NaCl ip	-
27	" " " ip	" " " ip	" " " sc	" " " sc	-
28	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
29	" " " ip	" " " ip	" " " -sc	" " " sc	-
30	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
31	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
32	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
33	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
34	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
35	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
36	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	Stärke 0,001
37	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(24 h)
38	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(48 h)
39	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(72 h)
40	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
41	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	Stärke 0,01
42	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(24 h)
43	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(48 h)
44	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(72 h)
45	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	-
46	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	Stärke 0,05
47	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(24 h)
48	" " " ip	" " " ip	" " " ip	" " " ip	(48 h)

Versuchs- tag	Dosis und App- likationsart von Trypanblau	Kontrolltier- gruppe I	Dosis und App- likationsart von Trypanblau	Kontrolltier gruppe II	Hauttestung aller Tiere mit Tuberku- lin GT (Stärke)
	Versuchstier- gruppe I		Versuchstier- gruppe II		
49	30 mg/Kg ip	Phys.NaCl ip			(72 h)
50					-
51			30 mg/Kg ip	Phys.NaCl ip	Stärke 0,1
52	" " " ip	" " " ip			(24 h)
53					(48 h)
54			" " " ip	" " " ip	(72 h)
55					-
56	" " " ip	" " " ip			Stärke 0,5
57			" " " ip	" " " ip	(24 h)
58					(48 h)
59			" " " ip	" " " ip	(72 h)
60	" " " ip	" " " ip			-
61					Stärke 1
62			" " " ip	" " " ip	(24 h)
63	" " " ip	" " " ip			(48 h)
64			" " " ip	" " " ip	(72 h)
65	" " " ip	" " " ip			-
66			" " " ip	" " " ip	Stärke 5
67					(24 h)
68	" " " ip	" " " ip			(48 h)
69			" " " ip	" " " ip	(72 h)
70					-
71			" " " ip	" " " ip	Stärke 10
72	" " " ip	" " " ip			(24 h)
73			" " " ip	" " " ip	(48 h)
74					(72 h)
75	" " " ip	" " " ip			-
76			" " " ip	" " " ip	Stärke 50
77	" " " ip	" " " ip			(24 h)
78			" " " ip	" " " ip	(48 h)
79					(72 h)
80	" " " ip	" " " ip			-
81			" " " ip	" " " ip	Stärke 100
82					(24 h)
83	" " " ip	" " " ip			(48 h)
84			" " " ip	" " " ip	(72 h)
85	" " " ip	" " " ip			-
86			" " " ip	" " " ip	Stärke 500
87					(24 h)
88	" " " ip	" " " ip			(48 h)
89			" " " ip	" " " ip	(72 h)
90					-
91	" " " ip	" " " ip			Stärke 1.000
92					(24 h)
93					(48 h)
94					(72 h)

3. Ergebnisse

3.1 Hauttestungen mit Tuberkulin GT der Stärke 0,001

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	36	11	137,0
51	0	0	0	-	36	11	137,0
13	0	0	0	-	36	11	165,0
8	0	0	0	-	36	11	170,0
3	0	0	0	-	36	11	170,5
48	0	0	0	-	36	11	143,5
73	0	0	0	-	36	11	203,5
1	0	0	0	-	36	11	220,0
16	0	0	0	-	36	11	137,0
56	0	0	0	-	36	11	165,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	36	5	70,0
53	0	0	0	-	36	5	75,0
40	0	0	0	-	36	5	75,0
10	0	0	0	-	36	5	100,0
57	0	0	0	-	36	5	75,0
7	0	0	0	-	36	5	75,0
38	0	0	0	-	36	5	85,0
44	0	0	0	-	36	5	100,0
30	0	0	0	-	36	5	92,5
33	0	0	0	-	36	5	92,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	0	0	0	-	36	11	
71	0	0	0	-	36	11	
17	0	0	0	-	36	11	
79	0	0	0	-	36	11	
2	0	0	0	-	36	11	
54	0	0	0	-	36	5	
32	0	0	0	-	36	5	
42	0	0	0	-	36	5	
31	0	0	0	-	36	5	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.1

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Guter Allgemeinzustand aller Tiere.

Bei der Versuchstiergruppe I war, bezogen auf das Ausgangsgewicht, am 36. Versuchstag eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 50 g festzustellen (s. Tab. 2). Dabei fiel auf, daß die Tiere, deren Ausgangsgewicht über 500 g betrug, am stärksten abgenommen hatten. Die Kontrolltiergruppen I und II wiesen demgegenüber am genannten Versuchstag Gewichtsanstiege von 10 - 30 g auf. Die Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I, die am 36. Versuchstag 5 Trypanblauinjektionen erhalten hatten, nahmen vor der Behandlung mit dem Farbstoff in gleicher Weise wie die beiden Kontrolltiergruppen an Körpergewicht zu. Am 36. Versuchstag hatten sie jedoch einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von 10 g erlitten. Die negativen Kontrolltiere verhielten sich bezüglich ihres Körpergewichtes wie die beiden Kontrolltiergruppen.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Ein Hautinfiltrat war bei Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,001 nach 24, 48 und 72 Stunden bei allen 33 in Versuch stehenden Tieren weder tastbar noch sichtbar. Es ließ sich während des gesamten Beobachtungszeitraumes keine lokale Reaktion am Injektionsort des Tuberkulins und der Kontrollflüssigkeit feststellen. Insbesondere war kein Reaktionsunterschied zwischen Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle zu beobachten.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.1

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,001

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,001

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.2 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,01

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag	Trypanblau- menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	41	13	162,0
51	0	0	0	-	41	13	162,0
13	0	0	0	-	41	13	199,0
8	0	0	0	-	41	13	201,5
3	0	0	0	-	41	13	201,5
48	0	0	0	-	41	13	170,5
73	0	0	0	-	41	13	240,5
1	0	0	0	-	41	13	260,0
16	0	0	0	-	41	13	162,0
56	0	0	0	-	41	13	199,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag	Trypanblau- menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	41	6	84,0
53	0	0	0	-	41	6	90,0
40	0	0	0	-	41	6	90,0
10	0	0	0	-	41	6	120,0
57	0	0	0	-	41	6	90,0
7	0	0	0	-	41	6	90,0
38	0	0	0	-	41	6	102,0
44	0	0	0	-	41	6	120,0
30	0	0	0	-	41	6	111,0
33	0	0	0	-	41	6	111,0

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.			
93	0	0	0	-	41	13
71	0	0	0	-	41	13
17	0	0	0	-	41	13
79	0	0	0	-	41	13
2	0	0	0	-	41	13
54	0	0	0	-	41	6
32	0	0	0	-	41	6
42	0	0	0	-	41	6
31	0	0	0	-	41	6
23	0	0	0	-	41	6

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.2

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten aller Tiere am 41. Versuchstag unverändert (s. Tab. 2).

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Ein Hautinfiltrat war bei der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,01 nach 24, 48 und 72 Stunden bei allen 33 in Versuch stehenden Tieren weder tastbar noch sichtbar. Keine sichtbare lokale Reaktion und insbesondere kein Reaktionsunterschied am Injektionsort des Tuberkulins und der Kontrollflüssigkeit während des gesamten Beobachtungszeitraumes.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.2

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei Hauttestung mit Tuberkulin der Stärke 0,01

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei Hauttestung mit Tuberkulin der Stärke 0,01

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.3 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,05

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	46	14	174,5
51	0	0	0	-	46	14	174,5
13	0	0	0	-	46	14	214,0
8	0	0	0	-	46	14	217,0
3	0	0	0	-	46	14	216,5
48	0	0	0	-	46	14	184,0
73	0	0	0	-	46	14	259,0
1	0	0	0	-	46	14	280,0
16	0	0	0	-	46	14	174,5
56	0	0	0	-	46	14	214,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	46	7	100,0
53	0	0	0	-	46	7	105,0
40	0	0	0	-	46	7	105,0
10	0	0	0	-	46	7	140,0
57	0	0	0	-	46	7	105,0
7	0	0	0	-	46	7	105,0
38	0	0	0	-	46	7	119,0
44	0	0	0	-	46	7	140,0
30	0	0	0	-	46	7	129,5
33	0	0	0	-	46	7	129,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.			
93	0	0	0	-	46	14
71	0	0	0	-	46	14
17	0	0	0	-	46	14
79	0	0	0	-	46	14
2	0	0	0	-	46	14
54	0	0	0	-	46	7
32	0	0	0	-	46	7
42	0	0	0	-	46	7
31	0	0	0	-	46	7
23	0	0	0	-	46	7

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.3

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Weiterhin guter Allgemeinzustand aller Tiere.

Am 46. Versuchstag lag die Gewichtsabnahme bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I zwischen 32 und 107 g. Die Tiere, deren Körpergewicht größer als 500 g war, zeigten wiederum die stärksten Gewichtsabnahmen. Demgegenüber wiesen die Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II am genannten Versuchstag lediglich Gewichtsabnahmen von 3 g bis 16 g auf. Zwei Tiere der letztgenannten Gruppe hatten, bezogen auf ihr Ausgangsgewicht, keinen Gewichtsverlust erlitten. Ein Tier wies sogar eine Gewichtszunahme von 3 g auf. Näheres s. Tabelle 2.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Ein Hautinfiltrat war bei der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,05 nach 24, 48 und 72 Stunden bei allen 33 in Versuch stehenden Tieren weder tastbar noch sichtbar. Kein Unterschied in bezug auf die lokale Reaktion an den beiden Injektionsstellen über den gesamten Beobachtungszeitraum. Nach 24 Stunden waren die reizlosen Injektionsstellen kaum mehr zu erkennen.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.3

Versuchstiergruppe I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,05

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,05

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.4 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,1

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	51	15	187,0
51	0	0	0	-	51	15	187,0
13	0	0	0	-	51	15	225,0
8	0	0	0	-	51	15	232,5
3	0	0	0	-	51	15	232,5
48	0	0	0	-	51	15	197,5
73	0	0	0	-	51	15	277,5
1	0	0	0	-	51	15	300,0
16	0	0	0	-	51	15	187,0
56	0	0	0	-	51	15	225,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	51	9	126,0
53	0	0	0	-	51	9	135,0
40	0	0	0	-	51	9	135,0
10	0	0	0	-	51	9	180,0
57	0	0	0	-	51	9	135,0
7	0	0	0	-	51	9	135,0
38	0	0	0	-	51	9	153,0
44	0	0	0	-	51	9	180,0
30	0	0	0	-	51	9	166,5
33	0	0	0	-	51	9	166,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	1,5	1,5	1,5	±	51	15	
71	4,0	4,0	4,0	± K.	51	15	
17	1,0	1,0	1,0	-	51	15	
79	1,0	1,0	1,0	-	51	15	
2	1,0	1,5	1,5	±	51	15	
54	1,5	1,5	1,5	±	51	9	
32	2,0	2,0	2,0	±	51	9	
42	1,0	1,0	1,5	±	51	9	
31	1,0	1,0	1,0	-	51	9	
23	1,5	1,5	1,5	±	51	9	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.4

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 51. Versuchstag war der Allgemeinzustand aller Tiere unverändert. Jedoch weiterhin mäßige Gewichtsabnahme bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppen I und II. Durch regelmäßige Zufütterung von Rüben, Obst und anderen Vegetabilien ließ sich jedoch die stetig erfolgende Gewichtsabnahme in erträglichen Grenzen halten. Demgegenüber wiesen die Meerschweinchen der beiden Kontrolltiergruppen sowie die negativen Kontrolltiere Gewichtszunahmen mäßigen Grades auf. Genaue Angaben über die Gewichtsverhältnisse am 51. Versuchstag finden sich in der Tabelle 2.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Die Versuchstiergruppen I und II wiesen nach der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,1 nach 24, 48 und 72 Stunden weder ein tastbares noch sichtbares Hautinfiltrat auf. Bezüglich der lokalen Reaktion an der Injektionsstelle des Tuberkulins und der Kontrollflüssigkeit war während des gesamten Beobachtungszeitraumes kein Unterschied festzustellen. Nach 24 Stunden gelang es kaum noch, die Injektionsstellen aufzufinden.

Bei den Kontrolltiergruppen I und II wiesen 6 von 10 Tieren nach 24 Stunden Hautinfiltrate auf, die über den gesamten Beobachtungszeitraum erkennbar blieben und deren Durchmesser 1,0 - 2,0 mm betrug. Ferner war ein gerade sichtbares Erythem festzustellen, das sich über den gesamten Infiltratbereich erstreckte, jedoch nicht darüber hinaus reichte. Die Tiere Nr. 17, 79 und 31 zeigten ein nur angedeutetes Infiltrat (ca. 1,0 mm Durchmesser) und keine diffuse Hautrötung im Infiltratbereich. Bei dem Tier Nr. 71 entwickelte sich dagegen ein Infiltrat von 4,0 mm Durchmesser, das von einem ca. 3 mm breiten, ringförmigen Erythem umgeben war. Bisweilen bildeten sich die Hautinfiltrate an der Tuberkulininjektionstelle nach 72 Stunden leicht zurück, was an einer geringfügigen Abnahme der Infiltratdurchmesser nach

72 Stunden erkennbar wurde. Die beschriebenen Infiltrate entstanden nicht an der Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle. Die negativen Kontrolltiere wiesen erwartungsgemäß keine Reaktionen an beiden Injektionsstellen auf.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.4

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,1

Kontrolltiergruppen I und II: Bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,1. Ein Tier wies eine positive Tuberkulinreaktion bei der Testung mit der genannten Stärke auf. Reaktionsintensität: ein Kreuz, entsprechend einem Infiltratdurchmesser von 4,0 mm (Kokardreaktion).

3.5 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,5

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	56	16	200,0
51	0	0	0	-	56	16	200,0
13	0	0	0	-	56	16	240,0
8	0	0	0	-	56	16	248,0
3	0	0	0	-	56	16	248,0
48	0	0	0	-	56	16	211,0
73	0	0	0	-	56	16	296,0
1	0	0	0	-	56	16	320,0
16	0	0	0	-	56	16	200,0
56	0	0	0	-	56	16	240,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	56	10	140,0
53	0	0	0	-	56	10	150,0
40	0	0	0	-	56	10	150,0
10	0	0	0	-	56	10	200,0
57	0	0	0	-	56	10	150,0
7	0	0	0	-	56	10	150,0
38	0	0	0	-	56	10	170,0
44	0	0	0	-	56	10	200,0
30	0	0	0	-	56	10	185,0
33	0	0	0	-	56	10	185,0

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	1,5	1,5	1,5	+	56	16	
71	4,0	4,0	4,0	+ K.	56	16	
17	1,5	1,5	1,5	+	56	16	
79	2,0	2,0	2,0	+	56	16	
2	1,5	1,5	1,5	+	56	16	
54	1,5	1,5	1,5	+	56	10	
32	2,0	2,0	2,0	+	56	10	
42	1,5	1,5	1,5	+	56	10	
31	1,5	2,0	2,0	+	56	10	
23	2,0	2,0	2,0	+	56	10	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.5

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 56. Versuchstag guter Allgemeinzustand aller Tiere, jedoch mäßiger Lebhaftigkeitsverlust bei der Versuchstiergruppe I. Die Meerschweinchen der Versuchstiergruppen I und II erlitten weiterhin leichte, jedoch stetige Gewichtsverluste. Das Körpergewicht der Kontrolltiergruppen I und II sowie das der negativen Kontrolltiere blieb gleich bzw. stieg noch langsam an.

Veränderungen im Testbezirk: Die Meerschweinchen der Versuchstiergruppen I und II zeigten nach der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,5 nach 24, 48 und 72 Stunden weder ein tastbares noch sichtbares Hautinfiltrat. Kein lokaler Reaktionsunterschied zwischen der Tuberkulin- und der Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle während des gesamten Beobachtungszeitraumes. Nach 24 Stunden waren die beiden reizlosen Injektionsstellen kaum noch zu erkennen. Bei 9 von 10 Tieren der Kontrolltiergruppen I und II entstanden dagegen Hautinfiltrate mit einem Durchmesser von 1,0 - 2,0 mm. Ein Erythem bedeckte die Infiltratbezirke. Es reichte jedoch nicht über diese hinaus. Die genannten Veränderungen an den Tuberkulininjektionsstellen blieben während des gesamten Beobachtungszeitraumes sichtbar und fanden sich nicht an den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen. Das Tier Nr. 71 entwickelte wiederum einen Infiltratdurchmesser von 4,0 mm. Um das Infiltrat herum hatte sich ein ringförmiges Erythem gebildet, so daß die Tuberkulinreaktion bei diesem Tier als positiv und als Kordreaktion angesehen werden konnte.

Die negativen Kontrolltiere zeigten keine lokale Reaktionen, insbesondere keine lokalen Reaktionsunterschiede an den Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.5

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei

der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 0,5

Kontrolltiergruppen I und II: Mit Ausnahme des Tieres Nr. 71, bei dem die Tuberkulinreaktion positiv ausfiel (Reaktionsintensität: ein Kreuz, entsprechend einem Infiltratdurchmesser von 4,0 mm) war die Tuberkulinreaktion bei den übrigen 9 Tieren negativ.

3.6 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 1

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag	Trypanblau- menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	61	18	225,0
51	0	0	0	-	61	18	225,0
13	0	0	0	-	61	18	270,0
8	0	0	0	-	61	18	277,5
3	0	0	0	-	61	18	277,5
48	0	0	0	-	61	18	238,0
73	0	0	0	-	61	18	333,0
1	0	0	0	-	61	18	360,0
16	0	0	0	-	61	18	225,0
56	0	0	0	-	61	18	270,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag	Trypanblau- menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	61	11	154,0
53	0	0	0	-	61	11	165,0
40	0	0	0	-	61	11	165,0
10	0	0	0	-	61	11	220,0
57	0	0	0	-	61	11	165,0
7	0	0	0	-	61	11	165,0
38	0	0	0	-	61	11	187,0
44	0	0	0	-	61	11	220,0
30	0	0	0	-	61	11	203,5
33	0	0	0	-	61	11	203,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchs- tag	Injektionen am Ver- suchstag Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.			
93	2,0	1,5	1,5	±	61	18
71	4,0	4,0	4,0	± K.	61	18
17	2,0	1,5	1,5	±	61	18
79	2,0	2,0	2,0	±	61	18
2	2,0	2,0	2,0	±	61	18
54	1,5	2,0	2,0	±	61	11
32	1,5	1,5	1,5	±	61	11
42	2,0	2,0	2,0	±	61	11
31	2,0	2,0	2,0	±	61	11
23	2,0	2,0	2,0	±	61	11

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.6

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Allgemein-
zustand aller Tiere unverändert.

Am 61. Versuchstag wiesen die Meerschweinchen der Versuchs-
tiergruppe I Gewichtsverluste von 35 - 110 g auf. Demgegen-
über lagen die Gewichtsabnahmen bei den Meerschweinchen der
Versuchstiergruppe II zwischen 6 g und 20 g. Die Tiere der
Kontrolltiergruppen I und II sowie die negativen Kontroll-
tiere nahmen weiterhin zu. Die Tabelle 2 bringt bezüglich
des Gewichtsverhaltens der Tiere genaue Angaben.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Bei den Meerschweinchen
der Versuchstiergruppen I und II war nach der Hauttestung
mit Tuberkulin GT der Stärke 1 kein tastbares und sicht-
bares Hautinfiltrat festzustellen. Kein lokaler Reaktions-
unterschied zwischen Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeits-
injektionsstelle über den gesamten Beobachtungszeitraum.
Die beiden Injektionsstellen waren nach 24 Stunden reizlos
und nur noch schwer zu erkennen.

9 Kontrolltiere zeigten 24 Stunden nach der Testung mit
Tuberkulin GT der Stärke 1 im Bereich der Tuberkulininjek-
tionsstelle Infiltrate, deren Durchmesser zwischen 1,5 und
2,0 mm lag. Die Infiltrate blieben während des gesamten
Beobachtungszeitraumes erhalten. An den Kontrollflüssig-
keitsinjektionsstellen bildeten sich keine Infiltrate aus.
Erytheme erstreckten sich über alle Infiltratbereiche,
überschritten jedoch nicht deren Grenzen. Beim Tier Nr. 71
fiel die Tuberkulinreaktion unverändert positiv aus.
Die negativen Kontrolltiere zeigten erwartungsgemäß keine
Reaktion.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.6

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei
der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 1

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ

(Bewertung: $\pm$) bei 9 und positiv (Reaktionsintensität: ein Kreuz, entsprechend einem Infiltratdurchmesser von 4,0 mm) bei einem Tier.

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.7 Hauttěstung mit Tuberkulin GT der Stärke 5

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	66	19	237,5
51	0	0	0	-	66	19	237,5
13	0	0	0	-	66	19	285,0
8	0	0	0	-	66	19	293,0
3	0	0	0	-	66	19	293,0
48	0	0	0	-	66	19	251,5
73	0	0	0	-	66	19	351,5
1	0	0	0	-	66	19	380,0
16	0	0	0	-	66	19	237,5
56	0	0	0	-	66	19	285,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	0	0	0	-	66	12	168,0
53	0	0	0	-	66	12	180,0
40	1,0	1,0	1,0	±	66	12	180,0
10	0	0	0	-	66	12	240,0
57	1,0	1,0	1,0	±	66	12	180,0
7	0	0	0	±	66	12	180,0
38	0	0	0	-	66	12	204,0
44	0	0	0	-	66	12	240,0
30	1,0	1,0	1,0	±	66	12	222,0
33	1,0	1,0	1,0	±	66	12	222,0

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	1,5	1,5	1,0	±	66	19	
71	4,5	4,5	4,5	++ K.	66	19	
17	2,0	2,0	2,0	±	66	19	
79	1,5	1,5	1,5	±	66	19	
2	2,0	2,0	2,0	±	66	19	
54	2,0	2,0	2,0	±	66	12	
32	1,5	2,0	2,0	±	66	12	
42	2,0	2,5	2,5	+ K.	66	12	
31	2,0	2,0	2,0	±	66	12	
23	2,0	2,0	2,0	±	66	12	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.7

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten: Am 66. Versuchstag Allgemeinzustand der Tiere unverändert.

Weiterhin leichte, jedoch stetige Gewichtabnahmen bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppen I und II. Die Tiere der Kontrolltiergruppen I und II sowie die negativen Kontrolltiere wiesen nur noch geringe Gewichtszunahmen auf. (s. Tab. 2)

Lokale Veränderungen im Testbezirk: 24, 48 und 72 Stunden nach der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 5 war bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I weder ein tastbares, noch sichtbares Hautinfiltrat an der Tuberkulininjektionsstelle vorhanden. Kein lokaler Reaktionsunterschied an der Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle während des gesamten Beobachtungszeitraumes. Die Injektionsstellen waren nach 24 Stunden reizlos, blieben jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum deutlich sichtbar.

Im Gegensatz zur Versuchstiergruppe I entwickelten 4 von den 10 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II tastbare und sichtbare Hautinfiltrate von 1,0 mm Durchmesser. Über den Infiltratbereichen waren angedeutete Erytheme zu sehen, die nicht über die Infiltratgrenzen hinaus reichten. Die genannten Veränderungen blieben während des gesamten Beobachtungszeitraumes sichtbar und fanden sich nicht an den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen. Bei den übrigen 6 Tieren waren keine Hautinfiltrate nachweisbar. Kein Reaktionsunterschied zwischen Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen.

8 von den 10 Meerschweinchen der beiden Kontrolltiergruppen zeigten Infiltratdurchmesser an den Tuberkulininjektionsstellen von etwa 2,0 mm. Auf den Infiltratflächen hatten sich, nun deutlich sichtbar, Erytheme entwickelt, die jedoch nicht deren Grenzen überschritten. Das Tier Nr. 71 zeigte an der Tuberkulininjektionsstelle ein Hautinfiltrat, dessen

Durchmesser 4,5 mm betrug und das ringförmig von einem Erythem umgeben war (Kokardreaktion). Ferner wurde die Tuberkulinreaktion beim Tier Nr. 42 mit einem Infiltratdurchmesser von 2,0 mm positiv.

Die negativen Kontrolltiere blieben über den gesamten Beobachtungszeitraum reaktionslos.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.7

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 5. 4 Tiere der Versuchsgruppe II erhielten die Bewertung $\pm$.

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ (Bewertung $\pm$) bei 8 und positiv bei 2 Tieren. Tier Nr. 71: Reaktionsintensität: zwei Kreuze, entsprechend einem Infiltratdurchmesser von 4,5 mm. Tier Nr. 42: Reaktionsintensität: ein Kreuz, entsprechend einem Infiltratdurchmesser von 2,0 mm.

3.8 Hauttestung mit Tuberkulin GT bei Stärke 10

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	71	20	250,0
51	1,0	1,0	1,0	+	71	20	250,0
13	0	0	0	-	71	20	300,0
8	1,0	1,0	1,0	+	71	20	310,0
3	0	0	0	-	71	20	310,0
48	0	0	0	-	71	20	265,0
73	1,0	1,0	1,0	+	71	20	370,0
1	1,0	1,0	1,0	+	71	20	400,0
16	1,0	1,0	1,0	-	71	20	250,0
56	0	0	0	-	71	20	300,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	1,0	1,0	1,0	-	71	14	196,0
53	1,5	1,5	1,5	+	71	14	210,0
40	1,5	1,5	1,5	+	71	14	210,0
10	1,0	1,0	1,0	+	71	14	280,0
57	1,5	1,5	1,5	+	71	14	210,0
7	1,0	1,5	1,5	+	71	14	210,0
38	1,0	1,0	1,0	-	71	14	240,0
44	1,0	1,0	1,0	+	71	14	280,0
30	1,5	1,5	1,5	+	71	14	258,5
33	1,0	1,0	1,0	+	71	14	258,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.			
93	2,0	2,0	2,0	+ K.	71	20
71	6,0	6,0	6,0	++ K.	71	20
17	1,5	2,5	2,5	+ K.	71	20
79	5,5	5,5	5,5	++ K.	71	20
2	3,0	3,0	3,0	+ K.	71	20
54	5,0	5,0	5,0	++ K.	71	14
32	6,0	6,0	6,0	++ K.	71	14
42	5,5	5,5	5,5	++ K.	71	14
31	5,0	5,0	5,0	++ K.	71	14
23	4,0	4,0	4,0	+ K.	71	14

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.8

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 71. Versuchstag schien es, als ob die Meerschweinchen der am längsten mit Trypanblau behandelten Versuchstiergruppe I ihre bis dahin bestehende Lebhaftigkeit eingebüßt hätten. Sie tendierten dazu, still in einer Ecke zu sitzen und sprachen dem Futter weniger als vorher zu. Von einer eindeutigen Verschlechterung ihres Allgemeinzustandes im Vergleich zu den übrigen Tieren konnte jedoch noch nicht die Rede sein. Der Allgemeinzustand der übrigen Tiere blieb unverändert gut.

Am 71. Versuchstag bewegten sich die Gewichtsabnahmen bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I zwischen 25 g und 110 g. Bezugsgröße war immer ihr Ausgangsgewicht. Bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II lagen die Gewichtsabnahmen am genannten Versuchtag zwischen 15 g und 30 g. Die beiden Kontrolltiergruppen sowie die negativen Kontrolltiere wiesen nur noch geringfügige Gewichtszunahmen auf.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Bei 4 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I bildeten sich 24 Stunden nach der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 10 gerade tastbare und sichtbare Hautinfiltrate mit einem Durchmesser von 1,0 mm aus, die auch nach 48 und 72 Stunden unverändert vorhanden waren. An den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen entwickelten sich keine Infiltrate. Erytheme waren nicht sichtbar, was wohl auf die inzwischen tiefblaue Verfärbung der Haut und der sichtbaren Schleimhäute infolge der langdauernden Trypanblaugaben zurückzuführen war. Die übrigen 6 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I entwickelten kein Hautinfiltrat an der Tuberkulininjektionsstelle, und es bestand bezüglich der lokalen Reaktion während des gesamten Beobachtungszeitraumes kein Unterschied zwischen der Tuberkulin- und der Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle. Auf-

fällig war jedoch, daß die beiden Injektionsstellen eine verzögerte Heilungstendenz aufwiesen.

8 von 10 Tieren der Versuchstiergruppe II zeigten nach 24 Stunden Infiltrate von 1,0 - 1,5 mm Durchmesser an den Tuberkulininjektionsstellen. Im Bereich der Infiltrate, jedoch nicht darüber hinaus, befanden sich gerade sichtbare Erytheme. Die Infiltrate blieben während des gesamten Beobachtungszeitraumes erhalten. Keine derartigen Veränderungen an den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen. Die restlichen 2 Meerschweinchen der genannten Gruppe zeigten während des gesamten Beobachtungszeitraumes kein Infiltrat an der Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle und damit auch keine Reaktionsunterschiede an den beiden Injektionsstellen.

Bei den 10 Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen I und II war nun die Konversionsschwelle erreicht, d.h. bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 10 zeigten alle Tiere eine positive Tuberkulinreaktion. 24 Stunden nach der Hauttestung hatten sich bei allen Tieren Kokardreaktionen ausgebildet. Es wurden Infiltratdurchmesser von 3,0 bis 6,0 mm Durchmesser gemessen.

Die negativen Kontrolltiere blieben reaktionslos.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.8

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 10. Dieses Ergebnis gilt für alle Tiere der genannten Versuchstiergruppen.

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion positiv bei allen 10 Tieren. 6 Tiere: Reaktionsintensität: zwei Kreuze. 4 Tiere: Reaktionsintensität: ein Kreuz.

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.9 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 50

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	76	21	262,5
51	1,5	1,5	1,5	±	76	21	262,5
13	0	0	0	-	76	21	315,0
8	0	0	0	-	76	21	325,5
3	0	0	0	-	76	21	325,5
48	0	0	0	-	76	21	277,5
73	1,0	1,0	1,0	±	76	21	388,5
1	1,5	1,5	1,5	±	76	21	420,0
16	1,0	1,0	1,0	±	76	21	262,0
56	0	0	0	-	76	21	315,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	1,0	1,0	1,0	±	76	15	210,0
53	1,0	1,0	1,0	±	76	15	225,0
40	1,5	1,5	1,5	±	76	15	225,0
10	1,0	1,0	1,0	±	76	15	300,0
57	2,0	2,0	2,0	±	76	15	225,0
7	2,0	2,0	2,0	±	76	15	225,0
38	1,0	1,0	1,0	±	76	15	255,0
44	1,0	1,0	1,0	±	76	15	300,0
30	2,0	2,0	2,0	±	76	15	277,5
33	1,5	1,5	1,5	±	76	15	277,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	3,0	3,0	3,0	+ K.	76	21	
71	6,0	6,0	6,0	++ K.	76	21	
17	4,0	4,0	4,0	+ K.	76	21	
79	7,0	7,0	7,0	++ K.	76	21	
2	5,0	5,0	5,0	++ K.	76	21	
54	5,5	5,5	5,5	++ K.	76	15	
32	6,0	6,0	6,0	++ K.	76	15	
42	5,0	6,0	6,0	++ K.	76	15	
31	5,0	5,0	5,0	++ K.	76	15	
23	5,0	5,0	5,0	++ K.	76	15	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.9

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 76. Versuchstag hatte sich der Allgemeinzustand der Versuchstiergruppe I merkbar verschlechtert. Die Tiere hatten ihre Lebhaftigkeit mehr oder weniger eingebüßt. Das Fell war zerzaust und wies nicht mehr den Glanz und die Glätte auf, die die anderen im Versuch stehenden Meerschweinchen zeigten. Eine Besserung oder wenigstens die Erhaltung eines ausreichenden Allgemeinzustandes konnte durch reichliche Zulagen von Obst und Gemüse zum Trockenfutter erreicht werden. Bei den übrigen Tieren hatte sich der Allgemeinzustand nicht verändert.

Stärkere Gewichtsabnahmen wurden bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I beobachtet. Die Versuchstiergruppe II hatte nur noch geringe Gewichtsabnahmen zu verzeichnen. Es bestand der Eindruck, daß sich die Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II auf ein neues Gewichtsniveau eingestellt hatten. Bei den Kontrolltiergruppen I und II sowie bei den negativen Kontrolltieren waren nur noch geringe Gewichtsveränderungen festzustellen. Näheres s. Tabelle 2.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: 4 von 10 Tieren der Versuchstiergruppe I hatten an der Tuberkulininjektionsstelle Infiltrate von 1,0 - 1,5 mm Durchmesser entwickelt, die während des gesamten Beobachtungszeitraumes erhalten blieben. Erytheme im Infiltratbereich waren aufgrund der intensiven Blauverfärbung von Haut und sichtbaren Schleimhäuten nicht zu erkennen. Keine Infiltratbildung an den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen. 6 Tiere zeigten während des gesamten Beobachtungszeitraumes weder tastbare noch sichtbare Infiltrate an den Tuberkulininjektionsstellen und keine Reaktionsunterschiede an den Tuberkulin- und den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen.

Alle 10 Tiere der Kontrolltiergruppen I und II entwickelten Kokardreaktionen, die während des gesamten Beobachtungs-

zeitraumes unverändert vorhanden waren. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 3,0 mm und 7,0 mm.

Die negativen Kontrolltiere zeigten keine Reaktion an den beiden Injektionsstellen.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.9

Versuchstiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion negativ bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 50.

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion bei allen Tieren positiv. Reaktionsintensität: zwei Kreuze bei 7 Tieren und ein Kreuz bei 3 Tieren.

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

3.10 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 100

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	0	0	0	-	81	23	287,5
51	1,5	1,5	1,5	+	81	23	287,5
13	0	0	0	-	81	23	345,0
8	0	0	0	-	81	23	356,5
3	0	0	0	-	81	23	356,5
48	0	0	0	-	81	23	305,5
73	1,5	1,5	1,5	+	81	23	407,0
1	1,5	1,5	1,5	++	81	23	460,0
16	0	0	0	-	81	23	287,0
56	0	0	0	-	81	23	345,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	2,0	2,0	2,0	+	81	16	224,0
53	1,5	1,5	1,5	+	81	16	240,0
40	2,0	2,0	2,0	+	81	16	240,0
10	1,5	1,5	1,5	+	81	16	320,0
57	2,0	2,0	2,0	+	81	16	240,0
7	1,0	1,0	1,0	-	81	16	240,0
38	1,5	1,5	1,5	+	81	16	272,0
44	1,0	1,0	1,0	+	81	16	320,0
30	2,5	2,5	2,5	+ K.	81	16	295,5
33	2,0	2,0	2,0	+ K.	81	16	295,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	3,5	3,5	3,0	+ K.	81	23	
71	8,5	8,5	8,5	++ K.	81	23	
17	5,0	4,5	4,5	++ K.	81	23	
79	7,5	7,5	7,0	++ K.	81	23	
2	11,0	11,0	11,0	+++ K.	81	23	
54	6,0	6,0	6,0	++ K.	81	16	
32	10,0	10,0	10,0	+++ K.	81	16	
42	6,0	6,0	6,0	++ K.	81	16	
31	5,0	5,0	5,0	++ K.	81	16	
23	5,5	5,5	5,0	++ K.	81	16	

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.10

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 81. Versuchstag hatte sich der Allgemeinzustand der Versuchstiergruppe I weiter verschlechtert. Die frühere Lebhaftigkeit der Tiere war völlig geschwunden. Sie bewegten sich kaum und lagen überwiegend still in einer Ecke ihres Käfigs. Weitere Gewichtsverluste waren jedoch nicht aufgetreten. Durch reichliche Zulagen von Vegetabilien zum Trockenfutter konnten die Tiere in einem Zustand gehalten werden, der die Fortführung des Versuchs erlaubte. Der Allgemeinzustand der übrigen Tiere blieb unverändert gut. Es traten keine oder nur noch geringfügige Gewichtsverschiebungen auf.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: 3 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I entwickelten 24 Stunden nach der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 100 Hautinfiltrate mit einem Durchmesser von ca. 1,5 mm. Erytheme wurden nicht beobachtet. An den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen war nach 24 Stunden bei den 3 Tieren kein Infiltrat nachweisbar. 7 Tiere zeigten 24 Stunden nach der Hauttestung kein Infiltrat an der Tuberkulininjektionsstelle. Kein Reaktionsunterschied zwischen Tuberkulin- und Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle nach 24 Stunden.

Sehr auffällig war jedoch die schlechte Heilungstendenz der Injektionsstellen bei der genannten Versuchstiergruppe. Nach ca. 48 Stunden hatten sich entzündliche Reaktionen von Linsengröße um die Einstichstellen gebildet, die sich im Verlauf einiger Tage zu Erosionen, Ulcerationen oder Hautabzessen entwickelten. Der Abzeileiter war infolge der Vermischung mit dem "Blockadefarbstoff" von bläulicher Farbe. Da die genannten Veränderungen an den Injektionsstellen frühestens nach 48 Stunden auftraten, konnte die Tuberkulinreaktion, wenn auch mit Unsicherheitsfaktoren belastet, noch beurteilt werden.

8 von 10 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II wiesen 24 Stunden nach der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 100 Infiltrate von 1,0 - 2,0 mm Durchmesser auf, die während des gesamten Beobachtungszeitraumes erhalten blieben. Keine Infiltrate an den Kontrollflüssigkeitsinjektionsstellen. Ferner waren im Bereich der Infiltrate Erytheme zu erkennen. Sie erstreckten sich nicht über die Infiltratgrenzen hinaus. Bei 2 Meerschweinchen waren 24 Stunden nach der Testung Hautinfiltrate von 2,0 und 2,5 mm Durchmesser aufgetreten. Ein ringförmiges Erythem umgab jedes Infiltrat, so daß die Tuberkulinreaktion bei den Tieren Nr. 30 und 33 als positiv und als Kokardreaktion angesprochen werden konnte.

Alle 10 Tiere der Kontrolltiergruppen I und II entwickelten Kokardreaktionen. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 3,5 mm und 11 mm.

Die 3 negativen Kontrolltieren blieben reaktionslos.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.10

Versuchstiergruppe I: Tuberkulinreaktion negativ bei Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 100

Versuchstiergruppe II: Tuberkulinreaktion negativ (Bewertung +) bei 8 und positiv (Reaktionsintensitäten: ein Kreuz) bei 2 Tieren.

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion positiv (Kokardreaktionen) bei allen 10 Tieren. Reaktionsintensität: 2 Tiere: drei Kreuze; 7 Tiere: zwei Kreuze; 1 Tier: ein Kreuz.

3.11 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 500

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	299,5
51	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	299,5
13	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	360,0
8	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	374,0
3	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	374,0
48	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	319,0
73	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	425,5
1	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	480,0
16	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	299,5
56	1,0	1,0	1,0	nzb	86	24	360,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	2,0	2,0	2,0	+ K.	86	17	238,0
53	2,0	2,0	2,0	±	86	17	255,0
40	2,0	2,0	2,0	+ K.	86	17	255,0
10	1,5	1,5	1,5	±	86	17	340,0
57	2,0	2,5	2,5	+ K.	86	17	255,0
7	1,0	1,0	1,0	±	86	17	255,0
38	2,0	2,0	2,0	+ K.	86	17	289,0
44	1,5	1,5	1,5	±	86	17	340,0
30	2,0	2,0	2,0	+ K.	86	17	314,5
33	2,5	2,5	2,5	+ K.	86	17	314,5

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
93	4,5	4,5	4,5	+ K.	86	24	
71	9,0	9,0	9,0	++ K.	86	24	
17	9,0	8,0	8,0	+++ K.	86	24	
79	9,0	9,0	9,0	+++ K.	86	24	
2	11,5	11,5	11,5	+++ K.	86	24	
54	8,0	8,0	8,0	++ K.	86	17	
32	11,0	11,5	12,0	+++ K.	86	17	
42	10,0	10,0	10,0	+++ K.	86	17	
31	9,0	9,0	9,0	+++ K.	86	17	
23	8,5	8,5	8,0	++ K.	86	17	

nzb = nicht zu beurteilen

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.11

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Am 86. Versuchstag hatte sich der Allgemeinzustand der Versuchstiergruppe I stark verschlechtert. Weitere Gewichtsverluste waren jedoch nicht erfolgt. Die Tiere saßen still in einer Ecke ihres Käfigs und enthielten sich zumeist jeglicher Nahrungsaufnahme. Auch durch die Zufütterung von Obst und Vegetabilien ließ sich nun ihr Allgemeinzustand nicht mehr bessern. Es wurde erwogen, den Versuch an dieser Stelle abubrechen bzw. bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I die Trypanblauinjektionen einzustellen. Da jedoch nur noch die Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 1.000 ausstand, erfolgte die Weiterführung des Versuches auf die Gefahr hin, daß die Tiere eventuell vor Beendigung desselben starben.

Keine eindeutige Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Versuchstiergruppe II. Es bestand jedoch der Eindruck, daß die Lebhaftigkeit der Tiere etwas nachgelassen hatte. Nahrungsaufnahme unverändert. Öftere Zulagen von Obst und Vegetabilien, die die Tiere begierig fraßen. Gewichtsveränderungen traten nicht mehr auf.

Die Kontrolltiergruppen I und II sowie die negativen Kontrolltiere befanden sich weiterhin in einem guten Allgemeinzustand. Einige Tiere zeigten bei den wöchentlichen Routinewägungen geringgradige Gewichtszunahmen.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: 24 Stunden nach der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 500 hatten sich bei allen 10 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe I sowohl an der Tuberkulin- als auch an der Kontrollflüssigkeitsinjektionsstelle gleich aussehende Infiltrate von ca. 1,0 mm Durchmesser entwickelt. Es handelte sich um entzündliche Infiltrate im Bereich der Einstichstellen. Nach 48 Stunden waren die Infiltratbereiche rot-bräunlich verkrustet. Nach einigen Tagen weiterer Beobachtung wurde erkennbar, daß

Antwortsse im Bereich der Infiltrate aufgetreten waren, die mit einem Durchmesser von 8 - 10 mm der gesetzten Tuberkulin- und Kontrollflussigkeitsquaddel entsprachen. Die in der Cutis befindlichen Abszesse entleerten sich 4 - 6 Tage nach der Testung spontan nach außen. Zurück blieben jauchende Ulcerationen, die eine schlechte Heilungstendenz aufwiesen. Durch Fingerdruck auf die Umgebung der Einstichstellen ließ sich oft schon nach 72 Stunden Eiter auspressen, der durch den Stichkanal nach außen floß.

Die Tuberkulinreaktion konnte nicht mehr beurteilt werden. In der Tabelle wurde deshalb die Spalte "Bewertung der Reaktion" mit "nab" (= nicht zu beurteilen) ausgefüllt.

6 von 10 Tieren der Versuchstiergruppe II wiesen 24 Stunden nach der Testung Infiltrate von 2,0 - 3,0 mm Durchmesser mit ringförmig umgebenem Erythem auf, so daß die Tuberkulinreaktion als positiv und als Mocardreaktion bezeichnet werden konnte. Die übrigen 4 Tiere zeigten ebenfalls Infiltrate von 2,0 mm Durchmesser. Die Erytheme waren jedoch nicht eindeutig als ringförmig anzusprechen. Sie erstreckten sich über den gesamten Infiltratbereich und etwas über diesen hinaus. Die Tuberkulinreaktionen wurden deshalb als negativ (Bewertung: -) gewertet.

Alle 10 Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen I und II wiesen Mocardreaktionen auf. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 4,5 mm und 11,5 mm.

Die negativen Kontrolltiere zeigten erwartungsgemäß keine Reaktionen.

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.11

Versuchstiergruppe I: Tuberkulinreaktion nicht zu beurteilen.

Versuchstiergruppe II: 6 Meerschweinchen zeigten eine positive (Reaktionsintensitäten: ein Kreuz) und 4 Meerschweinchen eine negative (Bewertung: -) Tuberkulinreaktion.

Kontrolltiergruppen I und II: Tuberkulinreaktion bei allen

Tieren positiv. Reaktionsintensität: 6 Tiere: drei Kreuze;
3 Tiere: zwei Kreuze; 1 Tier: ein Kreuz.

3.12 Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 1.000

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
35	-	-	-	nzb	91	25	312,5
51	-	-	-	nzb	91	25	312,5
13	-	-	-	nzb	91	25	375,0
8	-	-	-	nzb	91	25	387,5
3	-	-	-	nzb	91	25	387,5
48	-	-	-	nzb	91	25	332,5
73	-	-	-	nzb	91	25	438,5
1	-	-	-	nzb	91	25	500,0
16	-	-	-	nzb	91	25	310,0
56	-	-	-	nzb	91	25	375,0

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag	Trypanblau-menge (mg)
	24 Std.	48 Std.	72 Std.				
52	2,5	2,5	2,5	+ K.	91	19	266,0
53	2,0	2,0	2,0	+ K.	91	19	285,0
40	3,0	3,0	3,0	+ K.	91	19	285,0
10	1,5	1,5	1,5	±	91	19	380,0
57	2,0	2,0	2,0	+ K.	91	19	325,0
7	2,0	2,0	2,0	+ K.	91	19	325,0
38	3,0	3,0	3,0	+ K.	91	19	323,0
44	1,5	1,5	1,5	±	91	19	380,0
30	2,0	2,0	2,0	+ K.	91	19	351,0
33	4,0	4,0	4,0	+ K.	91	19	351,0

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Infiltratdurchmesser (mm)			Bewertung der Reaktion	Versuchstag	Injektionen am Versuchstag Phys. NaCl
	24 Std.	48 Std.	72 Std.			
93	5,0	5,0	5,0	+++ K.	91	25
71	8,5	9,0	9,0	++ K.	91	25
17	10,5	10,5	11,0	+++ K.	91	25
79	11,5	11,5	11,5	+++ K.	91	25
2	14,0	14,0	14,0	+++ K.	91	25
54	12,0	12,0	12,0	+++ K.	91	19
32	11,0	11,5	11,5	+++ K.	91	19
42	9,0	10,0	10,0	+++ K.	91	19
31	12,5	12,5	12,5	+++ K.	91	19
23	9,5	9,5	10,0	+++ K.	91	19

Bemerkungen zum Versuchsabschnitt 3.12

Allgemeinzustand und Gewichtsverhalten der Tiere: Der Allgemeinzustand der Versuchstiergruppe I war am 91. Versuchstag unverändert schlecht. Gewichtsveränderungen hatten sich jedoch nicht mehr eingestellt (s. Tab. 2).

Bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II fiel jetzt eine mäßige Einbuße an Lebhaftigkeit auf. Allerdings war damit keine erhebliche Reduktion des Allgemeinzustandes verbunden.

Die Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen I und II sowie die negativen Kontrolltiere befanden sich weiterhin in einem sehr guten Allgemeinzustand und zeigten kaum noch Gewichtsveränderungen.

Lokale Veränderungen im Testbezirk: Die Versuchstiergruppe I bildete wiederum nur Hautabzesse aus, so daß die Tuberkulinreaktion nicht beurteilt werden konnte.

Versuchstiergruppe II: Kokardreaktionen bei 8 von 10 Tieren. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 2,0 mm und 4,0 mm Durchmesser. Die restlichen 2 Tiere wiesen zwar ebenfalls Infiltratdurchmesser von 2,0 mm auf, jedoch keine ringförmigen Erytheme, die die Infiltrate umgaben. Die Erytheme bedeckten die Infiltratbezirke und reichten etwas über sie hinaus.

Alle 10 Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen zeigten dagegen eine Kokardreaktion. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 5,0 mm und 14,0 mm.

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

Beurteilung des Versuchsabschnittes 3.12

Versuchstiergruppe I: Tuberkulinreaktion nicht zu beurteilen (nzb)

Versuchstiergruppe II: Tuberkulinreaktion bei 8 Tieren positiv (Reaktionsintensitäten: ein Kreuz) und bei 2 Tieren nega-

tiv (Bewertung: $\pm$).

Negative Kontrolltiere: Keine Reaktion

Gesamtbeurteilung des Versuches

Einleitend ist festzustellen, daß die Sensibilisierung mit BCG bei den Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen I und II sowie bei der Versuchstiergruppe II zur Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein führte. Für die Versuchstiergruppe I ließ sich der Nachweis der Sensibilisierung nicht erbringen, da die Testungen niemals positive Hautreaktionen erzeugten.

Bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 10 reagierten alle Kontrolltiere positiv. Eine positive Tuberkulinreaktion konnte bei 8 von 10, d.h. bei 80 % der Kontrolltiere erzielt werden, als mit 5 T.E. getestet wurde. Die Konversionsschwelle lag demnach überwiegend bei 5 T.E. Die Reaktionsintensität (Infiltratdurchmesser) nahm in Abhängigkeit von der Tuberkulinstärke zu.

Die Versuchstiergruppe I ließ sich bis zur Testung mit 100 T.E. beurteilen. Bis dahin fielen die Tuberkulinreaktionen bei allen Tieren dieser Gruppe negativ aus. Danach war eine Beurteilung wegen des schlechten Allgemeinzustandes nicht mehr möglich.

Bei der Versuchstiergruppe II war die Konversionsschwelle im Vergleich zur Kontrolltiergruppe stark heraufgesetzt. Erst die Tuberkulinstärke von 1.000 führte bei 8 von 10, d.h. bei 80 % der Tiere zu positiven Hautreaktionen.

Reaktionsintensität bei allen positiv reagierenden Tieren: ein Kreuz. 2 Tiere blieben negativ. Demgegenüber zeigten alle Kontrolltiere bei der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 1.000 Reaktionsintensitäten, die mit drei Kreuzen bewertet werden konnten.

Die "Trypenblaublockade" hatte somit eine Abschwächung bzw. den Ausfall der Tuberkulinreaktion zur Folge.

Abschließend ist hervorzuheben, daß der Allgemeinzustand der Versuchstiere trotz der langdauernden Verabreichung von Trypanblau nicht so stark reduziert wurde, daß die Tiere starben oder der Versuch abgebrochen werden mußte. Nach der Beendigung des Versuches erholten sich sogar die Meer-schweinchen der Versuchstiergruppe I.

Im folgenden sind des Gewichtsverhalten der Tiere in Abhängigkeit vom Versuchstag und der jeweils verabreichten Trypanblaumenge sowie das Ausgangs- und Endgewicht einschließlich des während der Versuchszeit erlittenen Gewichtsveränderungen tabellarisch dargestellt.

Tabelle 2: Gewichtsverhalten der Tiere in Abhängigkeit vom Versuchstag und der jeweils verabreichten Trypanblaumenge

Tier-Nr.	Versuchstag	Gruppenzugehörigkeit des Versuchstieres	Ausgangsgewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhaltene Trypanblaumenge sowie Zahl der Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
35	0	V I	414	414	0	0	0
	9	"		402	5	12,5	62,5
	16	"		400	6	15,0	75,0
	23	"		397	8	20,0	100,0
	29	"		380	10	25,0	125,0
	36	"		360	11	27,5	137,0
	43	"		362	13	32,5	162,0
	49	"		350	15	37,5	187,0
	56	"		446	16	40,0	200,0
	63	"		335	18	45,0	225,0
	69	"		330	20	50,0	250,0
	76	"		334	21	52,5	262,5
	83	"		335	23	57,5	287,5
	89	"		335	25	62,5	312,5
	94	"		338	26	65,0	325,0
51	0	V I	420	420	0	0	0
	9	"		414	5	12,5	62,5
	16	"		414	6	15,0	75,0
	23	"		415	8	20,0	100,0
	29	"		408	10	25,0	125,0
	36	"		398	11	27,0	137,0
	43	"		392	13	32,0	162,0
	49	"		388	15	37,0	187,0
	56	"		385	16	40,0	200,0
	63	"		385	18	45,0	225,0
	69	"		381	20	50,0	250,0
	76	"		383	21	52,0	262,5
	83	"		383	23	57,0	287,5
	89	"		380	25	62,5	312,5
	94	"		380	26	65,0	325,0
13	0	V I	472	472	0	0	0
	9	"		461	5	15,0	75,0
	16	"		460	6	18,0	90,0
	23	"		445	8	24,0	120,0
	29	"		443	10	30,0	150,0
	36	"		432	11	33,0	165,0
	43	"		418	13	39,0	199,0
	49	"		404	15	45,0	225,0
	56	"		393	16	48,0	240,0
	63	"		395	18	54,0	270,0
	69	"		395	20	60,0	300,0
	76	"		373	21	63,0	315,0
	83	"		396	23	69,0	345,0
	89	"		400	25	75,0	375,0
	94	"		400	26	78,0	390,0

Tier- nr.	Versuchs- tag	Gruppen- zugehö- rigkeit des Ver- suchs- tieres	Ausgangs- gewicht	Gewicht am Versuchstag	Am Versuchstag insgesamt erhal- tene Trypanblaumenge sowie Zahl der Injektionen		
			(g)	(g)	Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
8	0	V I	516	516	0	0	0
	9	"		516	5	15,5	77,5
	16	"		498	6	18,6	93,0
	23	"		490	8	24,8	124,0
	29	"		483	10	31,0	155,0
	36	"		480	11	34,1	170,5
	43	"		470	13	40,3	201,5
	49	"		472	15	46,5	232,5
	56	"		470	16	49,6	248,0
	63	"		467	18	55,8	277,5
	69	"		467	20	62,0	310,0
	76	"		465	21	65,1	325,5
	83	"		448	23	71,3	356,5
	89	"		448	25	77,5	387,5
	94	"		448	26	80,6	403,0
3	0	"	511	511	0	0	0
	9	"		499	5	15,5	77,5
	16	"		490	6	18,6	93,0
	23	"		492	8	24,8	124,0
	29	"		487	10	31,0	155,0
	36	"		483	11	34,1	170,5
	43	"		471	13	40,3	201,5
	49	"		470	15	46,5	232,5
	56	"		470	16	49,6	248,0
	63	"		466	18	55,8	277,5
	69	"		458	20	62,0	310,0
	76	"		454	21	65,1	325,5
	83	"		455	23	71,3	356,5
	89	"		456	25	77,5	387,5
	94	"		456	26	80,6	403,0
48	0	V I	449	449	0	0	0
	9	"		436	5	13,5	67,5
	16	"		436	6	16,2	81,0
	23	"		420	8	21,6	108,0
	29	"		420	10	27,0	135,0
	36	"		417	11	28,7	143,5
	43	"		410	13	34,1	170,5
	49	"		404	15	39,5	197,5
	56	"		400	16	42,2	211,0
	63	"		400	18	47,6	238,0
	69	"		398	20	53,0	265,0
	76	"		400	21	55,7	277,5
	83	"		400	23	61,1	305,5
	89	"		402	25	66,5	332,5
	94	"		402	26	69,2	346,0

Tier- Nr.	Versuchs- tag	Gruppen- zugehö- rigkeit des Ver- suchs- tieres	Ausgangs- gewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhal- tene Trypanblaulmenge sowie Zahl der Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
73	0	V I	635	635	0	0	0
	9	"		621	5	18,5	92,5
	16	"		596	6	22,2	111,0
	23	"		580	8	29,6	148,0
	29	"		577	10	37,0	185,0
	36	"		564	11	40,7	203,5
	43	"		565	13	48,1	240,5
	49	"		550	15	55,5	277,5
	56	"		553	16	59,2	296,0
	63	"		555	18	66,6	333,0
	69	"		553	20	74,0	370,0
	76	"		550	21	77,7	388,5
	83	"		550	23	81,4	407,0
	89	"		550	25	87,6	438,5
	94	"		551	26	90,7	453,5
1	0	V I	650	650	0	0	0
	9	"		632	5	20,0	100,0
	16	"		619	6	24,0	120,0
	23	"		605	8	32,0	160,0
	29	"		586	10	40,0	200,0
	36	"		575	11	44,0	220,0
	43	"		551	13	52,0	260,0
	49	"		543	15	60,0	300,0
	56	"		540	16	64,0	320,0
	63	"		540	18	72,0	360,0
	69	"		543	20	80,0	400,0
	76	"		543	21	84,0	420,0
	83	"		540	23	92,0	460,0
	89	"		540	25	100,0	500,0
	94	"		540	26	104,0	520,0
16	0	V I	422	422	0	0	0
	9	"		420	5	12,5	62,5
	16	"		417	6	15,0	75,0
	23	"		404	8	20,0	100,0
	29	"		406	10	25,0	125,0
	36	"		390	11	27,5	137,0
	43	"		395	13	32,5	162,0
	49	"		395	15	37,5	187,0
	56	"		398	16	40,0	200,0
	63	"		398	18	45,0	225,0
	69	"		400	20	50,0	250,0
	76	"		400	21	52,0	262,0
	83	"		400	23	57,5	287,0
	89	"		397	25	62,0	310,0
	94	"		398	26	64,5	322,5

Tier-Nr.	Versuchstag	Gruppenzugehörigkeit des Versuchstieres	Ausgangsgewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhaltene Trypanblaumenge der Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
56	0	V I	504	504	0	0	0
	9	"		482	5	15,0	75,0
	16	"		481	6	18,0	90,0
	23	"		473	8	24,0	120,0
	29	"		459	10	30,0	150,0
	36	"		464	11	33,0	165,0
	43	"		450	13	39,0	199,0
	49	"		446	15	45,0	225,0
	56	"		443	16	48,0	240,0
	63	"		440	18	54,0	270,0
	69	"		440	20	60,0	300,0
	76	"		441	21	63,0	315,0
	83	"		440	23	69,0	345,0
	89	"		441	25	75,0	375,0
	94	"		441	26	78,0	390,0
93	0	K I	400	400	-	-	-
	9	"		403	-	-	-
	16	"		403	-	-	-
	23	"		403	-	-	-
	29	"		407	-	-	-
	36	"		410	-	-	-
	43	"		410	-	-	-
	49	"		410	-	-	-
	56	"		411	-	-	-
	63	"		411	-	-	-
	69	"		415	-	-	-
	76	"		416	-	-	-
	83	"		416	-	-	-
	89	"		416	-	-	-
	94	"					
71	0	K I	390	390	-	-	-
	9	"		394	-	-	-
	16	"		396	-	-	-
	23	"		396	-	-	-
	29	"		401	-	-	-
	36	"		401	-	-	-
	43	"		403	-	-	-
	49	"		410	-	-	-
	56	"		412	-	-	-
	63	"		412	-	-	-
	69	"		415	-	-	-
	76	"		415	-	-	-
	83	"		415	-	-	-
	89	"		414	-	-	-
	94	"		415	-	-	-

Tier-Nr.	Versuchstag	Gruppenzugehörigkeit des Versuchs-	Ausgangsgewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhaltene Trypanblaumenge sowie Zahl der Injektionen	Injektionen 0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
17	0	K I	405	405	-	-	-
	9	"		408	-	-	-
	16	"		410	-	-	-
	23	"		412	-	-	-
	29	"		414	-	-	-
	36	"		417	-	-	-
	43	"		419	-	-	-
	49	"		425	-	-	-
	56	"		431	-	-	-
	63	"		430	-	-	-
	69	"		431	-	-	-
	76	"		432	-	-	-
	83	"		432	-	-	-
	89	"		432	-	-	-
	94	"		432	-	-	-
79	0	K I	399	399	-	-	-
	9	"		401	-	-	-
	16	"		407	-	-	-
	23	"		411	-	-	-
	29	"		418	-	-	-
	36	"		419	-	-	-
	43	"		425	-	-	-
	49	"		425	-	-	-
	56	"		426	-	-	-
	63	"		425	-	-	-
	69	"		425	-	-	-
	76	"		428	-	-	-
	83	"		428	-	-	-
	89	"		430	-	-	-
	94	"		430	-	-	-
2	0	K I	401	401	-	-	-
	9	"		406	-	-	-
	16	"		410	-	-	-
	23	"		414	-	-	-
	29	"		415	-	-	-
	36	"		418	-	-	-
	43	"		423	-	-	-
	49	"		426	-	-	-
	56	"		431	-	-	-
	63	"		430	-	-	-
	69	"		431	-	-	-
	76	"		431	-	-	-
	83	"		431	-	-	-
	89	"		431	-	-	-
	94	"		431	-	-	-

ier- r.	Versuchs- tag	Gruppen- zugehö- rigkeit des Ver- suchs- tieres	Ausgangs- gewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhal- tene Trypanblaumenge sowie Zahl der Injektionen	Injektionen 0,5 % Lsg Farbstoff (ml) (mg)
2	0	V II	463	463	0	0
	9	"		465	0	0
	16	"		468	0	0
	23	"		470	0	0
	29	"		470	2	5,6
	36	"		463	5	14,0
	43	"		463	7	20,6
	49	"		455	8	22,4
	56	"		455	10	28,0
	63	"		451	12	33,6
	69	"		448	13	36,4
	76	"		445	15	42,0
	83	"		445	17	47,4
	89	"		444	19	53,2
	94	"		444	20	56,0
3	0	V II	460	460	0	0
	9	"		463	0	0
	16	"		466	0	0
	23	"		470	0	0
	29	"		473	2	6,0
	36	"		477	5	15,0
	43	"		470	7	21,0
	49	"		468	8	24,0
	56	"		461	10	30,0
	63	"		461	12	36,0
	69	"		452	13	39,0
	76	"		448	15	45,0
	83	"		445	17	51,0
	89	"		445	19	57,0
	94	"		445	20	60,0
40	0	V II	480	480	0	0
	9	"		486	0	0
	16	"		489	0	0
	23	"		491	0	0
	29	"		489	2	6,0
	36	"		480	5	15,0
	43	"		473	7	21,0
	49	"		470	8	24,0
	56	"		470	10	30,0
	63	"		463	12	36,0
	69	"		455	13	39,0
	76	"		455	15	45,0
	83	"		453	17	51,0
	89	"		442	19	57,0
	94	"		442	20	60,0

Tier-Nr.	Versuchstag	Gruppenzugehörigkeit des Versuchstieres	Ausgangsgewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhaltene Trypanblaumenge sowie Zahl der Injektionen		
					Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoff (mg)
10	0	V II	550	550	0	0	0
	9	"		556	0	0	0
	16	"		561	0	0	0
	23	"		565	0	0	0
	29	"		565	2	8,0	40,0
	36	"		563	5	20,0	100,0
	43	"		550	7	28,0	140,0
	49	"		547	8	32,0	160,0
	56	"		540	10	40,0	200,0
	63	"		538	12	48,0	240,0
	69	"		533	13	52,0	260,0
	76	"		538	15	60,0	300,0
	83	"		538	17	68,0	340,0
	89	"		538	19	76,0	380,0
	94	"		538	20	80,0	400,0
57	0	V II	502	502	0	0	0
	9	"		507	0	0	0
	16	"		511	0	0	0
	23	"		513	0	0	0
	29	"		514	2	6,0	30,0
	36	"		511	5	15,0	75,0
	43	"		502	7	21,0	105,0
	49	"		486	8	24,0	120,0
	56	"		488	10	30,0	150,0
	63	"		485	12	36,0	180,0
	69	"		481	13	39,0	195,0
	76	"		476	15	45,0	225,0
	83	"		474	17	51,0	255,0
	89	"		474	19	65,0	325,0
	94	"		474	20	68,0	340,0
7	0	V II	492	492	0	0	0
	9	"		500	0	0	0
	16	"		511	0	0	0
	23	"		511	0	0	0
	29	"		511	2	6,0	30,0
	36	"		508	5	15,0	75,0
	43	"		502	7	21,0	105,0
	49	"		492	8	24,0	120,0
	56	"		488	10	30,0	150,0
	63	"		484	12	36,0	180,0
	69	"		471	13	39,0	195,0
	76	"		470	15	35,0	225,0
	83	"		465	17	51,0	255,0
	89	"		465	19	57,0	325,0
	94	"		465	20	60,0	340,0

Tier- Nr.	Versuchs- tag	Gruppen- zugehö- rigkeit des Ver- suchs- tieres	Ausgangs- gewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhal- tene Trypanblaulmenge sowie Zahl der Injektionen	0,5 % (ml)	Lsg	Farbstoff (mg)
33	0	V II	602	602	0	0		0
	9	"		611	0	0		0
	16	"		614	0	0		0
	23	"		614	0	0		0
	29	"		615	2	7,4		37,0
	36	"		610	5	18,5		92,5
	43	"		603	7	25,9		129,5
	49	"		590	8	29,6		148,0
	56	"		581	10	37,0		185,0
	63	"		582	12	44,4		222,0
	69	"		583	13	48,1		240,5
	76	"		580	15	55,5		277,5
	83	"		580	17	62,9		314,5
	89	"		580	19	70,3		351,5
	94	"		580	20	73,0		365,0
54	0	K II	418	418	-	-		-
	9	"		421	-	-		-
	16	"		423	-	-		-
	23	"		425	-	-		-
	29	"		426	-	-		-
	36	"		426	-	-		-
	43	"		428	-	-		-
	49	"		430	-	-		-
	56	"		430	-	-		-
	63	"		431	-	-		-
	69	"		431	-	-		-
	76	"		426	-	-		-
	83	"		420	-	-		-
	89	"		418	-	-		-
	94	"		416	-	-		-
32	0	K II	490	490	-	-		-
	9	"		493	-	-		-
	16	"		495	-	-		-
	23	"		498	-	-		-
	29	"		500	-	-		-
	36	"		501	-	-		-
	43	"		503	-	-		-
	49	"		505	-	-		-
	56	"		505	-	-		-
	63	"		507	-	-		-
	69	"		507	-	-		-
	76	"		508	-	-		-
	83	"		508	-	-		-
	89	"		508	-	-		-
	94	"		508	-	-		-

Tier-Nr.	Versuchstag	Gruppenzugehörigkeit des Versuchstieres	Ausgangsgewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhaltene Trypanblauemenge sowie Zahl der Injektionen		
					Injektionen	0,5 % Lsg (ml)	Farbstoffe (mg)
42	0	K II	443	443	-	-	-
	9	"		446	-	-	-
	16	"		448	-	-	-
	23	"		451	-	-	-
	29	"		456	-	-	-
	36	"		456	-	-	-
	43	"		454	-	-	-
	49	"		455	-	-	-
	56	"		457	-	-	-
	63	"		457	-	-	-
	69	"		460	-	-	-
	76	"		460	-	-	-
	83	"		460	-	-	-
	89	"		461	-	-	-
	94	"		461	-	-	-
31	0	K II	410	410	-	-	-
	9	"		414	-	-	-
	16	"		419	-	-	-
	23	"		421	-	-	-
	29	"		421	-	-	-
	36	"		423	-	-	-
	43	"		425	-	-	-
	49	"		426	-	-	-
	56	"		426	-	-	-
	63	"		427	-	-	-
	69	"		427	-	-	-
	76	"		427	-	-	-
	83	"		428	-	-	-
	89	"		428	-	-	-
	94	"		430	-	-	-
23	0	K II	402	402	-	-	-
	9	"		409	-	-	-
	16	"		413	-	-	-
	23	"		415	-	-	-
	29	"		416	-	-	-
	36	"		415	-	-	-
	43	"		415	-	-	-
	49	"		417	-	-	-
	56	"		417	-	-	-
	63	"		420	-	-	-
	69	"		421	-	-	-
	76	"		422	-	-	-
	83	"		425	-	-	-

Tier- Nr.	Versuchs- tag	Gruppen- zugehö- rigkeits des Ver- suchs- tieres	Ausgangs- gewicht (g)	Gewicht am Versuchstag (g)	Am Versuchstag insgesamt erhal- tene Trypanblaumengen sowie Zahl der Injektionen		
					Injektionen	0,5 % Lsg	Farbstoff (mg)
77	0	NK	470	470	-	-	-
	9	"		477	-	-	-
	16	"		477	-	-	-
	23	"		479	-	-	-
	29	"		481	-	-	-
	36	"		485	-	-	-
	43	"		486	-	-	-
	49	"		488	-	-	-
	56	"		490	-	-	-
	63	"		490	-	-	-
	69	"		490	-	-	-
	76	"		491	-	-	-
	83	"		491	-	-	-
	89	"		491	-	-	-
	94	"		491	-	-	-
4	0	NK	528	528	-	-	-
	9	"		533	-	-	-
	16	"		535	-	-	-
	23	"		541	-	-	-
	29	"		541	-	-	-
	36	"		543	-	-	-
	43	"		545	-	-	-
	49	"		545	-	-	-
	56	"		546	-	-	-
	63	"		546	-	-	-
	69	"		549	-	-	-
	76	"		549	-	-	-
	83	"		549	-	-	-
	89	"		550	-	-	-
	94	"		550	-	-	-
9	0	NK	430	430	-	-	-
	9	"		436	-	-	-
	16	"		441	-	-	-
	23	"		442	-	-	-
	29	"		443	-	-	-
	36	"		445	-	-	-
	43	"		453	-	-	-
	49	"		453	-	-	-
	56	"		461	-	-	-
	63	"		463	-	-	-
	69	"		463	-	-	-
	76	"		466	-	-	-
	83	"		470	-	-	-
	89	"		470	-	-	-
	94	"		470	-	-	-

Zeichenerklärung zu Tabelle 2:

V I = Versuchstiergruppe I
V II = Versuchstiergruppe II
K I = Kontrolltiergruppe I
K II = Kontrolltiergruppe II
NK = negative Kontrolltiere

Tabelle 3: Gewichtsverhalten der Tiere

a) Versuchstiergruppe I

Tier-Nr.	Ausgangsgewicht (g)	Endgewicht (g)	Gewichtsdifferenz (g)
35	414	338	- 76
51	420	380	- 40
13	472	400	- 72
8	516	448	- 68
3	511	456	- 55
48	449	402	- 47
73	635	551	- 84
1	650	540	- 110
16	422	398	- 24
56	504	441	- 63

b) Versuchstiergruppe II

Tier-Nr.	Ausgangsgewicht (g)	Endgewicht (g)	Gewichtsdifferenz (g)
52	463	444	- 19
53	460	445	- 15
40	480	442	- 38
10	550	538	- 12
57	502	474	- 28
7	492	465	- 27
44	650	590	- 60
30	610	587	- 23
33	602	580	- 22
38	570	550	- 20

c) Kontrolltiergruppen I und II

Tier-Nr.	Ausgangsgewicht (g)	Endgewicht (g)	Gewichtsdifferenz (g)
93	400	416	+ 16
71	390	415	+ 25
17	405	432	+ 27
79	399	430	+ 31
2	401	431	+ 30
54	418	416	- 2
32	490	508	+ 18
42	443	461	+ 18
31	410	430	+ 20
23	402	425	+ 23

d) Negative Kontrollen

Tier-Nr.	Ausgangsgewicht (g)	Endgewicht (g)	Gewichtsdifferenz (g)
77	470	491	+ 21
4	528	550	+ 22
9	430	470	+ 40

4. Diskussion

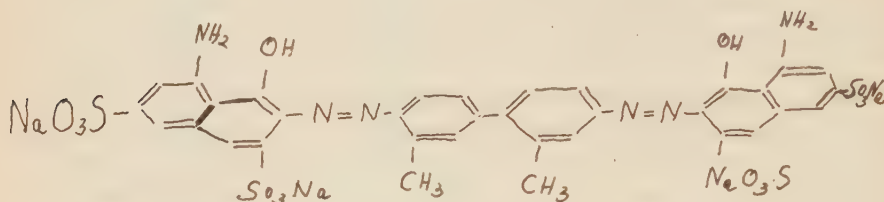
Die mononucleären Phagocyten oder freien Makrophagen gehören zu den Zellen, die ASCHOFF (1924) aufgrund ihrer Neigung zur Endocytose (COHN, 1969) unter der Bezeichnung "Reticuloendotheliales Systems" (R.E.S.) zusammengefaßt hat. Die Endocytose umfaßt die Phagocytose und die Pinocytose. Bereits ASCHOFF erkannte, daß die mononucleären Phagocyten in bezug auf Phagocytose und Pinocytose besonders aktiv sind und diese Funktion im Gegensatz zu den anderen Zellelementen des R.E.S. unter physiologischen Bedingungen ausüben. Dieses Verhalten trug ihnen in jüngster Zeit die Bezeichnung "professional macrophages" ein. (HIRSCH, 1969)

In der vorliegenden Arbeit ist der Versuch unternommen worden, durch ein sog. "R.E.S.-Blockadeexperiment" eine temporäre Funktionshemmung bzw. den völligen Funktionsausfall der intensiv phagocytierenden und pinocytierenden mononucleären Phagocyten herbeizuführen und für die Dauer des Versuches aufrecht zu erhalten. Als "Blockademittel" diente aus folgenden Gründen der Azofarbstoff Trypanblau:

1. Der Farbstoff wird unter der Voraussetzung, daß er nicht intravenös verabreicht wird, in erheblichem Maße von den mononucleären Phagocyten durch Pinocytose aufgenommen.
2. Trypanblau schädigt die mononucleären Phagocyten.

Die unter Punkt 1. und 2. genannten Eigenschaften sowie eine günstige Dosierung und Applikationsart des "Blockademittels" Trypanblau sollten nur eine Zellart, nämlich die mononucleären Phagocyten, im Hinblick auf Zahl und Funktion beeinflussen. Die anderen Zellelemente des R.E.S. sowie die Parenchymzellen sollten nach Möglichkeit unbeeinflusst bleiben oder nur soweit geschädigt werden, daß die Auswertung des Versuches noch möglich war.

Der Azofarbstoff Trypanblau, dessen chemische Formel hier wiedergegeben ist, gehört aufgrund seiner Ladungsverhältnisse, seiner Molekülgröße und bestimmter Eigenschaften in wäßriger Lösung zu den sog. elektronegativen, halbkolloidalen Farbstoffen. (STOCKINGER, 1964)



Infolge mehrerer solubilisierender Gruppen im Molekül ist er sehr gut wasserlöslich, jedoch nicht lipidlöslich. Trypanblau ist eine Säure. Der farbgebende Anteil ist das Säureanion. Als Säure würde der Farbstoff seiner wäßrigen Lösung eine saure Reaktion (pH kleiner als 7,0) erteilen, was für biologische Zwecke oft ungeeignet ist. Deshalb wird er als Natriumsalz geliefert. Seine wäßrige Lösung reagiert dann neutral. (STOCKINGER, 1964)

Bei intravenöser Injektion bindet sich Trypanblau an Serumalbumin und zirkuliert so im Organismus. (BENNHOLD et al, 1950; BENNHOLD, 1951; BENNHOLD und SEYBOLD, 1951, 1952) Dadurch entstehen Makromoleküle (Farbstoff-Protein-Komplexe) mit einem Molekulargewicht von 100.000 - 200.000 D. (STOCKINGER, 1964) Moleküle dieser Größenordnung werden von mononucleären Phagocyten begierig pinocytiiert. (Übersicht s. ROOS, 1970) Jedoch nicht das gesamte Trypanblau liegt an Serumalbumin gebunden vor. Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen gebundenem und freiem Trypanblau ein. Dieses Gleichgewicht liegt ganz auf der Seite des gebundenen Farbstoffes, so daß nur geringe Trypanblaumengen frei vorliegen. (ESS und FRIDERICI, 1957) Sowohl in freier als auch in ge-

bundener Form gelangt Trypanblau ins Interstitium. Hier bindet es sich - entsprechend den Ladungsverhältnissen - an Komponenten der Grundsubstanz des Bindegewebes. Hauptsächlich wird der an Albumin gebundene Farbstoff jedoch durch mononucleäre Phagocyten im Gewebe pinocytiert. (MOSS, 1954; Übersichten s. STOCKINGER, 1964 und ROOS, 1970) Die im Gewebe befindlichen Farbstoff-Protein-Komplexe gelangen in die Lymphbahnen und auf diesem Wege in die Lymphknoten. (RÜTTIMANN, 1973) In den Lymphknoten werden sie vorzugsweise ebenfalls durch mononucleäre Phagocyten, aber auch durch Reticuloendothelien (ortsständige Makrophagen des R.E.S.) pinocytiert. (Übersicht s. ROOS, 1970)

Bei intravenöser Zufuhr des Farbstoffes kann jedoch nicht vom Verschwinden des Trypanblau aus der Blutbahn darauf geschlossen werden, daß diese Substanz von den mononucleären Phagocyten und den ortsständigen Makrophagen des R.E.S. vollständig pinocytiert worden ist. (LETTERER, 1934, 1959) LETTERER (1934) stellte fest, daß bei intravenöser Zufuhr von Trypanblau nur 10 - 20 % des Farbstoffes pinocytiert wurde. 80 - 90 % wurden über die Nieren und die Leber ausgeschieden. Die Untersuchungen erfolgten an kleinen Labortieren (Kaninchen, Ratten, Meerschweinchen). Eine genügend lange "Kontaktzeit" zur Aufnahme der Farbstoff-Protein-Komplexe durch Makrophagen war nur dann zu erreichen, wenn die genannte Substanz subcutan oder intraperitoneal zugeführt wurde. Besonders bei intraperitonealer Zufuhr des Trypanblauen kam es zu einer langsamen Anflutung in den Blutstrom, so daß die angebotene Farbstoffmenge vollständig von mobilen und ortsständigen Makrophagen pinocytiert wurde.

In gleicher Weise erfolgte bei intraperitonealer Applikation der Abstrom des an Serumalbumin gebundenen Farbstoffes via Gewebe in die Lymphknoten. Die freien Makrophagen pinocytierten unter diesen Bedingungen besonders aktiv. (LETTERER, 1934, 1959)

Unter Pinocytose (LEWIS, 1931) wird die Aufnahme der im kolloidalen Lösungszustand vorliegenden Farbstoff-Protein-

Komplexe in das Zellinnere der mononucleären Phagocyten verstanden. Zweck der Aufnahme ist der intrazelluläre, fermentative Abbau des aufgenommenen Farbstoffes in besonderen Organellen, den Pinocysosomen oder secundären Lysosomen. (Übersicht s. ROOS, 1970) Als Ergebnis des Aufnahmeporgangs entstehen Pinosomen, in denen sich die Farbstoff-Protein-Komplexe befinden. Sie wandern in die Nähe des Golgi-Apparates, wo sie mit daselbst gebildeten primären Lysosomen, die die lysosomalen oder abbauenden Enzyme enthalten, zu Pinolysosomen oder secundären Lysosomen verschmelzen. Diese wiederum verschmelzen zu größeren Abbauorganellen, den Verdauungsvacuolen. (Übersicht s. ROOS, 1970) Da Trypanblau jedoch nur in geringem Maße abbaufähig ist, persistiert der Farbstoff in der Zelle. (STOCKINGER, 1964) ASCHOFF (1924) spricht in diesem Zusammenhang von Speicherung und bezeichnet Trypanblau und andere Farbstoffe, die intrazellulär nur schlecht oder überhaupt nicht abbaufähig sind, als Speicherfarbstoffe.

Infolge ihrer besonders stark ausgeprägten Neigung zur Phagocytose und Pinocytose - sie phagocytieren und pinocytieren schon viel früher und intensiver als die anderen Zellelemente des R.E.S. (ASCHOFF, 1934; EHRICH, 1934, 1956, 1962; v. HERRATH, 1953; ROHR, 1953; FRESEN, 1953, 1960, 1967; LETTERER, 1934, 1959; GÜNTHER, 1971) - nehmen die mononucleären Phagocyten, besonders, wenn die Dosierung günstig ist und die Applikation intraperitoneal oder subcutan erfolgt, den größten Teil des zugeführten Farbstoffes auf. (LETTERER, 1934) Es wird somit im gewissen Sinne eine selektive Aufnahme des Farbstoffes durch die Zellart erreicht, die in ihrer Funktion beeinflußt werden soll. Diese Eigenschaft der mononucleären Phagocyten wird als die erste und wesentliche Voraussetzung zu ihrer möglichst selektiven Beeinflussung bzw. Schädigung durch die Zufuhr des "Blockademittels" Trypanblau angesehen.

Die zweite Voraussetzung besteht darin, daß das pinocytiierte Trypanblau die mononucleären Phagocyten schädigt. Der intra-

zelluläre Abbau des pinocytierten Trypanblaus ist nach STOCKINGER (1964) nur sehr langsam und unvollständig möglich. Aufgrund eines noch nicht geklärten Mechanismus kommt es deshalb zum Übertritt des in den Verdauungsvacuolen befindlichen Farbstoffes in das Cytoplasma. Besondere Affinität hat er zu den Mitochondrien. (BENNHOLD und SEYBOLD, 1952; SEYBOLD und KALLEE, 1954) Ferner geht er eine feste Bindung mit verschiedenen Cytoplasmaproteinen, bei denen es sich um Enzymproteine handeln dürfte, sowie mit Zellkernbestandteilen ein. (STOCKINGER, 1964) Die intensive Trypanblaupinocytose bedeutet daher einen schweren Eingriff in die Energie bereitstellenden Stoffwechselprozesse der Zelle sowie eine Behinderung der Mitose. Entsprechend der verminderten Aktivität der zellulären Phosphokinasen ist die Bereitstellung von ATP so stark herabgesetzt, daß der baldige Zelltod die unvermeidliche Folge ist. (MANZINI und MENINI, 1949 zit. n. ESS und FREDERICI, 1957) In diesem Zusammenhang beansprucht eine Beobachtung von TESSENOW (1969) besonderes Interesse: Bei intensiv Trypanblau pinocytierenden mononucleären Phagocyten läßt sich zelluläre Autophagie beobachten, d.h. große Teile des Cytoplasmas werden durch eine Elementarmembran abgeschnürt und anschließend intrazellulär abgebaut. Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch auf diesem Wege Funktionsstörungen bei intensiv Trypanblau mononucleären Phagocyten entstehen, die schließlich zum Tode der Zellen führen.

Es dürfte nicht allzu sehr überraschen, daß Trypanblau neben mutagener auch cancerogene Wirkung besitzt. (ENGELS et al, 1949; KORTING und TADZER, 1951; GABRIELI und CAMPANI, 1952; SCHALLOCK, 1953; PAPACHARALAMPOUS, 1954; HAMMERL und MILLESI, 1954; ZEITLHOFER und SPEISER, 1954; LINDNER, 1955; ESS und FRIDERICI, 1957; GRAFFI und KRISCHKE, 1964) SCHMÄHL (1970) stellte fest, daß nicht nur das Trypanblau selbst cancerogen wirkt, sondern daß es im Organismus noch eine Giftung erfährt, indem die im Molekül

enthaltenen Azobrücken reduktiv gespalten werden, so daß das besonders stark cancerogene 3,3'-Dimethylbenzidin entsteht. Trypanblau führt entsprechend seiner vorwiegenden Lokalisation im Organismus ausschließlich zu cancerogenen Veränderungen des lymphoreticulären Systems. Aus diesem Grunde hat der Farbstoff für die experimentelle Retikuloseforschung eine nicht geringe Bedeutung erlangt. (Übersicht s. SCHALLOCK, 1953) Nach SCHALLOCK (1953) bilden die Lymphknoten bei Versuchstier und Mensch aufgrund der Qualität und Quantität ihrer Strukturelemente in Abhängigkeit von übergeordneten hormonalen Stimuli und örtlichen Gegebenheiten physiologischerweise 9 verschiedene Typen. Wird Meer-schweinchen nur 0,5 - 1,0 ml einer 1 % Trypanblaulösung über 400 Tage intraperitoneal verabreicht, so entstehen bei 80 - 100 % der Versuchstiere bösartige, generalisierte und zum Teil transplantable, blastomatöse Retikulosen. Die als Folge der Dauerverabreichung von Trypanblau an den Lymphknoten der Versuchstiere auftretenden histologischen Veränderungen teilten GILMAN et al (1947 - 1952 zit. n. SCHALLOCK, 1953) in verschiedene Schweregrade ein: Die Veränderungen ersten Grades stellten die normalen Formvarianten der Lymphknoten dar. Das histologische Bild zweiten Grades bezeichneten die Autoren als Polyblastosis. Darunter verstanden sie eine Follikelhyperplasie, eine Sinushistiocytose, umschriebene Plasmazellvermehrungen in den Marksträngen, Proliferation verschiedener Zellen wie die Endothelien der Arterien und der Venen sowie die Bildung verschiedener Histiocytenformen. Dritter Grad: Polyblastische und plasmazelluläre Umwandlungen im Lymphknotenmark beherrschten das Bild. Es bestand eine starke Ansammlung von sog. lymphoiden Histiocyten in den Sinus. Die Follikel beherbergten vorwiegend histiocytäre Zellelemente. Die Veränderungen zweiten und dritten Grades erwiesen sich als reversibel. Der vierte Grad zeichnete sich durch den völligen Schwund der Strukturelemente wie Follikel u.a. aus. Es fand sich eine exzessive Histiocytenvermehrung in Mark und Rinde (sog. lymphoide und

endotheliale Histiocyten). In den Randgebieten der Markstränge bildeten sich Riesenzellen vom Typ STARNBERG-REED aus. Auch Plasmazellen waren in erheblicher Anzahl vorhanden. Die Bilder wiesen große Ähnlichkeit mit dem HODGKIN-Granulom oder mit den von ROBB-SMITH (1953) beschriebenen lymphohistiocytären Retikulosen des Menschen auf. Die Veränderungen fünften Grades waren durch das Auftreten von Plasmocytomen, Endotheliomen, Histiocytomen und Hämohistioblastomen gekennzeichnet. Die Hämohistioblastome zeichneten sich durch Heterotransplantierbarkeit aus. An vielen Stellen der Lymphknoten, deren ursprüngliche Struktur bis auf die gefäßführenden Septen geschwunden war, fanden sich myelopoetische Herde. Die Endotheliome zeigten fließende Übergänge zum HODGKIN-Sarkom. Es war bemerkenswert, daß die irreversiblen Veränderungen vierten und fünften Grades schon vor dem hundertsten Tag der Trypanblaubehandlung auftraten. (SCHALLOCK, 1953)

Aufgrund der bisher an kleinen Labortieren, insbesondere an Meerschweinchen, vorliegenden Erkenntnisse über die Verteilung im Organismus und die biologische Wirkung des Farbstoffes Trypanblau ist nun das Versuchsergebnis der vorliegenden Arbeit zu diskutieren. Zuvor sei noch einmal darauf hingewiesen, daß es im Versuch darauf ankam, eine möglichst selektive Schädigung der im Gewebe befindlichen mononucleären Phagocyten herbeizuführen, die zu ihrem Funktionsverlust sowie zur Verminderung ihrer Gesamtzahl führen sollte. Die anderen Zellelemente des R.E.S. sollten nach Möglichkeit nicht regressiv beeinflußt werden. Sicherlich ließ sich die letzte Forderung nicht uneingeschränkt verwirklichen. Der Gesamtverlauf des Versuches gab jedoch Anlaß zu der Hoffnung, daß die in das "Blockademittel" Trypanblau gesetzten Erwartungen wenigstens teilweise erfüllt wurden. Aus den tabellarisch zusammengestellten Versuchsergebnissen geht hervor, daß die 10 Kontrolltiere (Kontrolltiergruppen

I und II) bei der Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 10 alle eine positive Reaktion aufwiesen. Die Infiltratdurchmesser bewegten sich zwischen 2,0 und 5,0 mm. Dementsprechend wurden die Reaktionsintensitäten mit einem bzw. zwei Kreuzen bewertet. Daraus geht hervor, daß die Sensibilisierung mit dem Antigen "BCG" von allen Kontrolltieren immunologisch beantwortet wurde. Es entwickelte sich erwartungsgemäß eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein. Ferner konnte die Erkenntnis gewonnen werden, daß die Intensität der Tuberkulinreaktion (Infiltratdurchmesser) in Abhängigkeit von der zur Testung verwendeten Tuberkulinstärke zunimmt. (s. Ergebnisse) Darüber hinaus zeigten die Ergebnisse, daß die "Schwelle" für eine positive Tuberkulinreaktion nicht bei allen Kontrolltieren gleich war. Ein solcher Befund überrascht in der Biologie nicht.

Ganz anders verhielt sich die Versuchstiergruppe I. Sie, die bereits vor der Sensibilisierung vom ersten Versuchstag an mit Trypanblau behandelt wurde, entwickelte während des gesamten Testungszeitraumes keine eindeutig positive Hautreaktion. Infolge der ziemlich abrupt einsetzenden Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Tiere am Ende des Versuches ließ sich das Testungsergebnis bei Verwendung der Tuberkulinstärken 500 und 1.000 überhaupt nicht mehr beurteilen. Das Versuchsergebnis bei der Versuchstiergruppe I wurde daher wie folgt gedeutet: Eine Beeinflussung der mononucleären Phagocyten war zwar möglich und sogar wahrscheinlich, ließ sich jedoch nicht beweisen, da während des gesamten Versuchszeitraumes weder Zählungen der Blutmonocyten noch Abschätzungen der im Gewebe befindlichen freien Makrophagen vorgenommen wurden. Die Abschätzung der im Gewebe befindlichen mononucleären Phagocyten hätte durch Zählung der Peritonealexsudatmakrophagen nach unspezifischer Reizung der Bauchhöhle erfolgen können. Die Beeinflussung der Monocytenvorstufen im Knochenmark war auch zu erwägen. Der

Nachweis war indessen nicht zu erbringen, da keine Untersuchungen am Knochenmark durchgeführt wurden. Ferner war zu überlegen, ob nicht die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) oder die die Faktoren (Lymphokine) liefernden kleinen Lymphocyten in ihrer Funktion geschädigt wurden. KOSZEWSKY et al (1957) sowie HAN (1969) beobachteten nämlich, daß auch kleine Lymphocyten zur Phagocytose und Pinocytose befähigt sind und durch die Aufnahme des Farbstoffes in ihrer Funktion geschädigt werden können. Eine schädigende Beeinflussung der im regionalen Lymphknoten proliferierenden Immunoblasten oder bereits des antigenstimulierten, immunkompetenten, kleinen Lymphocyten erschien auch möglich, so daß es infolge der Pinocytose von Trypanblau gar nicht mehr zur Bildung der Effektorzellen kam. Am wahrscheinlichsten erschien es jedoch, daß die kontinuierlichen Trypanblaugaben in ziemlich hoher Dosierung zu Veränderungen der Lymphknoten führten, wie sie von GILMAN et al (1947 - 1952 zit. n. SCHALLOCK, 1953) beschrieben wurden. Der Ersatz des lymphoreticulären Gewebes der Lymphknoten durch ortsfremde und funktionsunfähige Zellelemente sowie die nach und nach erfolgende Zerstörung der Struktur des lymphoreticulären Systems konnten sich folgendermaßen auswirken: 1. Die BCG-Keime gelangten nicht in den regionalen Lymphknoten. Eine Stimulierung des immunkompetenten T-Lymphocyten war damit nicht mehr möglich. 2. Die Keime gelangten in den regionalen Lymphknoten. Jedoch konnte die Induktion der zellulären Immunantwort gegen Tuberkuloprotein nicht erfolgen, da der Lymphknoten als Folge der Trypanblaubehandlung strukturelle Zerstörungen aufwies, die es unmöglich machten, daß sich der antigenstimulierte kleine T-Lymphocyt in dieser veränderten Umgebung zum Immunoblasten transformieren und klonal proliferieren konnte. 3. Möglicherweise waren die T-Lymphocyten infolge der Trypanblaubehandlung ebenfalls in ihrer Funktion gestört. Die Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Ver-

suchstiergruppe I verbunden mit der Infektionsneigung und den Abzeßbildungen an den Injektionsstellen ließ sich im Sinne einer Abwehrschwäche deuten. Vielleicht beruhte sie auf einer sich entwickelnden Reticulose. Wie bereits erwähnt, sahen GILMAN et al (1947-1952) schon vor dem 100. Behandlungstag bei ihren mit Trypanblau behandelten Meerschweinchen irreversible, blastomatöse Retikulosen. Auch der dieser Arbeit zugrunde liegende Tierversuch dauerte 93 Tage und die Trypanblaudosierung entsprach etwa der von GILMAN und Mitarbeitern. Eine sich anbahnende allgemeine Intoxikation war allerdings auch denkbar. Zusätzliche Untersuchungen, die das eine oder das andere hätten verifizieren können, wurden nicht angestellt. Als einzige Aussagemöglichkeit ergab sich somit, daß die Tuberkulinreaktion immer negativ ausfiel, solange die Tiere sich noch in einem guten bzw. leidlich guten Allgemeinzustand befanden. Dieser Zeitraum umfaßte die Testungen mit den Tuberkulinstärken 0,001 bis einschließlich Stärke 100. Im Gegensatz zu den Kontrolltieren blieb damit die Tuberkulinreaktion bei der Versuchstiergruppe I negativ.

Wiederum anders verhielten sich die 10 Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II. Bei dieser Gruppe, die erst eine Woche vor Beginn der Hauttestungen, am 26. Versuchstag, Trypanblauinjektionen erhielt, traten bei der Hauttestung bis einschließlich Stärke 50 nur negative Tuberkulin-Reaktionen auf. Die Hauttestung mit Tuberkulin GT der Stärke 100 führte bei zwei Tieren zu einer positiven Reaktion. Bei der Testung mit der Stärke 500 reagierten schon 6 Tiere positiv. Reaktionsintensität: ein Kreuz bei allen positiv reagierenden Tieren. Schließlich konnte bei der Testung mit der Stärke 1.000 bei 8 von 10 Tieren eine positive Tuberkulin-Reaktion erzielt werden. Reaktionsintensität: ein Kreuz bei allen Tieren. 2 Meerschweinchen blieben negativ. Dieses Versuchsergebnis beweist, daß bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II die sensibilisierende

BCG-Injektion immunologisch beantwortet worden ist. Es entwickelte sich eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen Tuberkuloprotein, d.h. es hatten sich auf den antigenen Stimulus hin in dem das Antigendepot drainierenden Lymphknoten spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) gegen Tuberkuloprotein sowie Lymphokine produzierende kleine Lymphocyten gebildet. Im Vergleich zu den Kontrolltieren war jedoch bei den Meerschweinchen der Versuchstiergruppe II die Tuberkulin-Reaktion merkbar abgeschwächt, wie ein Vergleich der Reaktionsintensitäten bei der Testung mit Tuberkulin GT der Stärke 1.000 eindringlich zeigt. Bei der Testung mit der Stärke 100 reagierten nur zwei Tiere der Versuchstiergruppe II positiv. Reaktionsintensität: ein Kreuz. Im Gegensatz dazu reagierten bei der Stärke 100 alle Kontrolltiere positiv. Reaktionsintensität: zwei Kreuze und drei Kreuze. Die Reaktionsintensität war bei allen Meerschweinchen der Kontrolltiergruppen I und II auf drei Kreuze (Infiltratdurchmesser größer als 9,0 mm) angestiegen, als mit Tuberkulin GT der Stärke 1.000 getestet wurde. Eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes der Tiere, die das Versuchsergebnis in Frage stellen konnte, hatte sich bei der Versuchstiergruppe II nicht eingestellt. Dieses Ergebnis weist in Verbindung mit den Befunden, die bei den Kontrolltieren sowie bei der Versuchstiergruppe I zu erheben waren, auf eine selektive Beeinflussung und damit auf eine essentielle Mitwirkung der mononucleären Phagocyten am Zustandekommen der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Tier hin. Dieses Ergebnis gewinnt an Aussagekraft, wenn man sich an die Ergebnisse der in der Einleitung geschilderten Bestrahlungsexperimente sowie an die Versuche mit AMS erinnert. Auch ein "Blockadeexperiment" führt somit zur Abschwächung der Tuberkulin-Reaktion, d.h. zu gleichen Ergebnissen, wie man sie mit den beiden anderen Methoden erhalten hatte. In diesem Zusammenhang ist mit

HAMMERT und MILLESI (1954) darauf hinzuweisen, daß erfolgreiche Blockadeexperimente zumeist durch die Schädigung der R.M.S.-Zellen zustande kamen.

Das "Blockademittel" Trypanblau dürfte somit die mononucleären Phagocyten schädigen. Die unmittelbaren Folgen dieser Schädigung bestehen in ihrer verkürzten Lebensdauer und damit in der Verminderung ihrer Zahl im Gewebe. Über eine eventuelle Beeinflussung der Monocytenvorstufen im Knochenmark durch Trypanblau, die keineswegs abwegig erscheint, ist nichts bekannt. Darüber kann der Versuch auch keine Aussagen machen. Wohlbekannt ist jedoch, daß das Knochenmark in bezug auf die Monocyten gesteigerten Bedürfnissen der Peripherie nur in begrenztem Umfang nachkommen kann. (v. FURTH, 1969) Auch daraus läßt sich ihre zahlenmäßige Verminderung im Gewebe infolge der langdauernden Trypanblaubehandlung herleiten. Darüber hinaus dürften sich bei den im Gewebe befindlichen, excessiv Trypanblau pinocytierenden mononucleären Phagocyten Funktionsstörungen einstellen, die die Erfüllung ihrer Aufgaben im Organismus be- bzw. verhindern. Es darf somit geschlossen werden, daß im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp einerseits ein Mangel an Monocyten vorliegt und daß andererseits die daselbst befindlichen mononucleären Phagocyten funktionelle Störungen aufweisen, aufgrund derer sie ihren Aufgaben nicht in gewohnter Weise nachzukommen imstande sind. Dabei ist vorausgesetzt, daß spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen) und "non-committed"-Lymphocyten vorhanden und daß diese funktionsfähig sind.

Wie bei den Versuchen mit AMS gelang es nicht, die Tuberkulinreaktion völlig zu unterdrücken. Das ist sicherlich darauf zurückzuführen, daß auch ein "Blockadeexperiment" nicht dazu imstande ist, die mononucleären Phagocyten so zu schädigen, daß keine funktionsfähige Zelle mehr übrig bleibt. Die Bestrahlungsexperimente bewiesen jedoch eindeutig die vollständige Unterdrückbarkeit der cutanen Überempfindlich-

keitsreaktion vom Spättyp durch die strahlenbedingte Schädigung der mononucleären Phagocyten. (LUBAROFF und WAKSMAN, 1960, 1967, 1968 a, b)

Welchen Einfluß haben nun die mononucleären Phagocyten auf das Zustandekommen der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus?

Ohne die Bereitstellung der Monocyten durch das Knochenmark und die Anwesenheit derselben im Reaktionsbereich (Antigen-depot) gibt es keine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. (VOLKMAN und GOWANS, 1965 a, b; COCHRANE, 1967; VOLKMAN und COLLINS, 1968; LUBAROFF und WAKSMAN, 1960, 1967, 1968 a, b; SPECTOR und RYAN, 1969; MACKANESS, 1969; HEISE und WEISER, 1970; FELDMAN und UNANUE, 1971; BOROS und WARREN, 1971; GALLILLY und GORNOSTANSKY, 1972). Es erhebt sich jedoch die Frage, ob die Monocyten als solche für das Zustandekommen der genannten Reaktion unentbehrlich sind. In letzter Zeit haben sich nämlich Hinweise dafür ergeben, daß der transformierte Monocyt, d.h. der aktivierte freie Makrophage im Reaktionsbereich die wirksame Zelle ist. (MACKANESS, 1969) Demzufolge muß für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem sensibilisierten Organismus nicht nur die Anwesenheit der Monocyten im Reaktionsbereich, sondern auch die Transformation derselben zu aktivierten freien Makrophagen und ihre noch zu klärende Funktion daselbst gesichert sein. Dies steht in Übereinstimmung mit der Beobachtung, daß der Höhepunkt der Überempfindlichkeitsreaktion (maximale morphologische Ausprägung) vom Spättyp erst dann erreicht wird, wenn sich alle im Reaktionsbereich befindlichen Monocyten zu freien Makrophagen transformiert haben. (DANNENBERG, 1968; COHN, 1968; v. FURTH und COHN, 1968; MACKANESS, 1969; BOSCHMAN und FELDMAN, 1970; BLOOM und BENNETT, 1970) Während die notwendige Anwesenheit der Monocyten im Reaktionsbereich als Vorbedingung aufgrund der Experimente mit AMS und der Bestrah-

lungsversuche genügend gesichert erscheint, liegen bisher keine Hinweise dafür vor, wie es zur Transformation der Monocyten im Reaktionsbereich kommt und welche Funktion die aktivierten freien Makrophagen für das Zustandekommen der klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp haben. Schließlich ist zu fragen, ob es sich um eine essentielle Funktion in bezug auf das Zustandekommen der genannten Manifestation der zellulären Immunantwort handelt.

COHN (1968) und DANNENBERG (1968) haben zuerst darauf hingewiesen, daß sich die im Bereich einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp befindlichen Monocyten zu aktivierten freien Makrophagen transformieren. MACKANESS (1969) erkannte, daß es sich um hochaktivierte freie Makrophagen mit den ihnen eigentümlichen morphologischen und funktionellen Charakteristika handelt. Bei einer anderen Manifestation der zellulären Immunantwort, der cell-mediated immunity, war das Auftreten hochaktivierter Makrophagen - von MACKANESS (1969) als zornige Makrophagen bezeichnet - ebenfalls bekannt geworden. Deshalb erhob sich die Frage, wie die im Reaktionsbereich vorhandenen Monocyten in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden, d.h. wodurch ihre Transformation zu hochaktivierten freien Makrophagen ursächlich bedingt ist. Um diese Frage beantworten zu können, muß zuvor kurz auf die bisher vorliegenden Erkenntnisse über den zellulären Immunmechanismus eingegangen werden. Nach den Ergebnissen von PICK und TURK (1972) läuft die zelluläre Immunantwort nach einem 4-Stufen-Mechanismus ab, der spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten (Effektorzellen), "non-committed"-Lymphocyten und mononucleäre Phagocyten einschließt:

1. Das in der Peripherie befindliche Antigen stimuliert eine begrenzte, im Reaktionsbereich (Antigendepot) befindliche Zahl von spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) zur Synthese des antikörperartigen Produktes, indem es mit den genannten Zellen spezifisch in

- Reaktion tritt. Das antikörperartige Produkt, bei dem es sich nicht um einen molekularen Antikörper handelt, ist, wie die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten, als Mediator der zellulären Immunantwort zu betrachten.
2. Das antikörperartige Produkt geht mit dem Antigen einen stabilen Komplex ein.
 3. Die gebildeten Komplexe (Antigen-antikörperartiges Produkt) nehmen Kontakt mit "non-committed"-Lymphocyten auf und stimulieren sie zur Synthese der Lymphokine. Unter Kontaktaufnahme ist eine zeitweilige oder die dauernde feste Bindung der Komplexe an die Lymphocytenmembran zu verstehen, möglicherweise sogar die Aufnahme der Komplexe in die "non-committed"-Lymphocyten.
 4. Die Lymphokine mit ihren vielfältigen biologischen Wirkungen führen, wie an anderer Stelle ausführlich beschrieben, zur morphologischen Ausprägung der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp als Manifestation der zellulären Immunantwort.

Damit war jedoch noch nichts über die Rolle der mononucleären Phagocyten im immunologischen Geschehen ausgesagt. Es blieb zu klären, wie sich die Monocyten im Reaktionsbereich zu aktivierten freien Makrophagen transformieren, welche Funktion sie daselbst zu erfüllen haben und warum diese Funktion für das Zustandekommen der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp essentiell ist. Denn ohne Monocyten, die sich im Bereich des Antigendepots (Reaktionsbereich) zu hochaktivierten freien Makrophagen transformieren, gibt es keine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp.

Wie transformieren sich die Monocyten im Bereich der cutanen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp zu hochaktiven freien Makrophagen? Das ist die Frage nach dem Mechanismus, durch den die mononucleären Phagocyten in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden. Die Ergebnisse von PICK et al (1972)

sowie von PICK und TURK (1972) zum Mechanismus der zellulären Immunantwort, auf die in dieser Arbeit ausführlich eingegangen wurde und die zu einer vorläufigen Formulierung des zellulären oder zellvermittelten Immunmechanismus führten, lieferten auch die Voraussetzung zur Beantwortung der Frage nach dem Mechanismus der Einbeziehung der mononucleären Phagocyten in den zellulären Immunmechanismus. In der vorliegenden Arbeit wird die Meinung vertreten, daß der Komplex, bestehend aus Antigen und antikörperartigem Produkt (s. PICK und TURK, 1972), nicht nur zu den im Reaktionsbereich befindlichen "non-committed"-Lymphocyten, sondern auch zu den infolge der Lymphgokinfreisetzung dort hinströmenden Monocyten Kontakt aufnimmt und dadurch ihre Transformation zu hochaktiven freien Makrophagen induziert. Die beschriebene Kontaktaufnahme ist der Mechanismus, durch den die mononucleären Phagocyten in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden. Es gibt viele Agentien, beispielsweise phagocytier- und pinocytierbare anorganische oder organische Stoffe verschiedenster Provenienz, Bakterien, Endotoxin gram negativ Bakterien u.a., die Monocyten, nachdem sie mit den genannten Elementen Kontakt aufgenommen haben, zur Makrophagentransformation veranlassen. Die Transformation bedeutet eine Steigerung ihrer funktionellen Fähigkeiten. Jedoch nur das antikörperartige Produkt, gebunden an das Antigen, bewirkt ihre Transformation zu hochaktivierten oder zornigen Makrophagen mit ganz erheblich gesteigerten funktionellen Fähigkeiten in quantitativer und qualitativer Hinsicht. (MACKANESS, 1969 u.a.) Der in Rede stehende Komplex (Antigen-antikörperartiger Produkt) holt gewissermaßen das Letzte aus ihnen heraus. Alle anderen korpusculären und kolloidal gelösten Substanzen benötigen, nachdem sie durch Phagocytose oder Pinocytose in die Zelle aufgenommen worden sind, keinen so hohen Aktivierungsgrad für ihren Abbau. Lediglich das Endotoxin gram negativer Bakterien scheint ebenfalls, d.h. ohne eine zelluläre Immunantwort herbeizuführen, einen hohen Aktivierungsgrad der mononucleären Phagocyten zu bewirken.

Ein "macrophage-activating-material" als Lymphokin, d.h. von "non-committed"-Lymphocyten produziert, wie es von WOLSTEN-CROFT (1971) gefordert wurde, gibt es nach diesen Ausführungen nicht. Das antikörperartige Produkt, das von den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) auf Kontakt mit dem spezifischen Antigen hin gebildet wird, hat den hochaktivierenden Einfluß auf die mononucleären Phagocyten. Die Rolle des antikörperartigen Produktes wird um so plausibler, als es trotz mehrfacher Bemühungen in dieser Richtung niemals gelungen ist, durch die in-vitro Inkubation von Monocyten bzw. gereinigten Peritonealexsudatmakrophagen mit Lymphokine enthaltenden Supernatants oder MIF-Präparationen eine Transformation zu hochaktiven oder zornigen Makrophagen herbeizuführen. (BARNET et al, 1968; FAUVE und DEKARIS, 1968; MOONEY und WAKSMAN, 1970; SALVIN et al, 1970; Übersicht s. BLOOM, 1971) Untersuchungen von FONG et al (1963), die bereits 1963 durchgeführt wurden, weisen darauf hin, daß dem antikörperartigen Produkt eine Induktorrolle zukommen dürfte, d.h. die Substanz ist imstande, reprimierte Operen im Genom der mononucleären Phagocyten zu aktivieren. Dadurch erfahren die genannten Zellen eine erhebliche Steigerung ihrer funktionellen Fähigkeiten sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht. Zur Erfüllung ihrer vielfältigen Funktionen benötigen die mononucleären Phagocyten keineswegs immer einen so hohen Aktivierungsgrad. Schließlich gibt es Hinweise, daß das antikörperartige Produkt nur die mononucleären Phagocyten induzieren kann. (MACKANESS, 1969)

Welche Funktion haben die hochaktivierten oder zornigen Makrophagen im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp und inwiefern ist diese Funktion essentiell für das Zustandekommen der genannten Reaktion?

Eine essentielle Funktion müssen die Makrophagen im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp haben. Ohne die Bereitstellung der Monocyten, die sich daselbst zu hochaktivierten freien Makrophagen transformieren, kommt die Reaktion nämlich überhaupt nicht oder nur abgeschwächt zustande. Deshalb interessieren in diesem Zusammenhang die funktionellen Eigenschaften der mononucleären Phagocyten im aktivierten Zustand. Die wesentliche Aufgabe der genannten Zellen wurde immer darin gesehen, mikrobielle Krankheitserreger und anderes particuläres und gelöstes Fremdmaterial sowie körpereigene, gealterte oder aus anderen Gründen zugrunde gegangene Zellen durch Endocytose (COHN, 1969) aufzunehmen und abzubauen, um so den Organismus gegen Einflüsse dieser oft schädlichen Agentien zu schützen. (Übersicht s. ROOS, 1970) Später erkannte man, daß mononucleäre Phagocyten für die Induktion der humoralen Immunantwort (Bildung der molekularen Antikörper) nicht ohne Bedeutung sind und daß sich diese Form der immunbiologischen Reizbeantwortung durch "Blockadeexperimente" negativ beeinflussen läßt. (HANKS, 1932 a, ; SHINJI OHBUCHI, 1968 a, b; SABET und FRIEDMAN, 1969 a, b, c, 1970; FISCHER et al, 1969; KÖLSCH, 1969; PERKINS, 1969; FISHMAN und ADLER, 1969; ASKONAS und JAROSKOVA, 1969; GLOBERSON und FELDMAN, 1969) Die Grundlage der bisher beschriebenen Funktionen der mononucleären Phagocyten bilden ihre digestiven Leistungen.

STECHER (1969) beschritt erstmalig einen anderen Weg, indem sie die genannte Zellart auf ihre Syntheseleistungen im Sinne von Sekretionsprodukten untersuchte, die im Gegensatz zu den lysosomalen Enzymen nach außen abgegeben werden. Die Autorin wies nach, daß freie Makrophagen insgesamt 4 verschiedene Komplementkomponenten, Interferon, Pyrogen und Lysozym synthetisieren und durch Exocytose aus den Zellen ausschleusen. Sie besitzen damit auch sekretorische Funktion. Die Synthese des Pyrogens ließ sich nur bei hochaktivierten freien Makrophagen feststellen. MCTVOR und WETSER (1971 a, b) zeigten,

daß mononucleäre Phagocyten, die sich im Verlauf einer host-versus-graft-reaction - d. h. unter der Bedingung der Entwicklung einer zellulären Immunantwort - zu hoch-aktivierten oder zornigen Makrophagen transformieren, eine cytotoxische Substanz produzieren und ins Kulturmedium abgeben. Diese Substanz bezeichneten die Autoren als "special macrophage toxin" (SMC). Die Ergebnisse von MC.IVOR und WEISER (1971 a, b) sprechen dafür, daß hochaktivierte Makrophagen im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp Substanzen nach Art der Lymphokine abgeben, die für die volle Ausprägung der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp unbedingt nötig sind. Fehlen diese Substanzen infolge Monocyten- bzw. Makrophagenmangels am Reaktionsort, so fehlt eine Komponente für die Ausprägung der Reaktion. Zur Produktion dieser Substanzen scheinen nur hochaktivierte oder zumindest höhergradig aktivierte freie Makrophagen befähigt zu sein. Anders ist die obligate Aktivierung der im Bereich der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp befindlichen Monocyten kaum zu denken. Demnach liefern nicht nur "non-committed"-Lymphocyten Wirkstoffe für die Ausprägung der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp. Da jedoch die Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp bei Makrophagenmangel am Reaktionsort oft nicht ganz verschwindet, sondern nur schwächer ausgeprägt ist, darf man folgern: Hochaktivierte freie Makrophagen müssen nicht unbedingt eine essentielle Komponente für das Zustandekommen der Reaktion liefern. Ihre essentielle Mitwirkung kann auch eher darin bestehen, daß sie eine genügende Wirkstoffmenge zur vollen Ausprägung der Reaktion sicher stellen. Es ist jedoch keineswegs auszuschließen, daß die Lymphokine allein zu keiner klassischen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp führen. Für diese Deutung finden sich in der Literatur ebenfalls Hinweise. (BLOOM, 1971)

Aufgrund einer erheblichen Anzahl von Einzelarbeiten (MACKANESS, 1964, 1968, 1969; YOSHIDA et al. 1969; TURK und OORT, 1970; NORTH, 1970 a, b, c; COLLINS und MACKANESS, 1970 a, b;

IZUMI und COSTELLO, 1971 a, b; MC. GREGOR und COSTER, 1971 a, b), die alle Manifestationen der zellulären Immunantwort einschließen, erwerben die mononucleären Phagocyten als hochaktivierte freie Macrophagen folgende funktionelle Eigenschaften, wenn sie in den zellulären Immunmechanismus einbezogen werden:

1. Die Befähigung zur excessiven Phagocytose und Pinocytose.
2. Die Reaktivierung ihrer Mitosetätigkeit.
3. Die Befähigung zur Produktion cytotoxischer Substanzen nach Art der Lymphokine.
4. Die Befähigung zur verstärkten Produktion einer Reihe von Proteinen mit bakterizider Wirkung. Ferner können sie, wenn sie hochaktiviert sind, Pyrogen produzieren.
5. Die Befähigung zur adaptativen Synthese lysosomaler Enzyme. Zur Bildung lysosomaler Enzyme sind sie auch sonst imstande. Werden sie jedoch in den zellulären Immunmechanismus einbezogen, so erfährt das lysosomale Enzymbildungsvermögen sowohl quantitativ als auch qualitativ eine erhebliche Erweiterung.

Die erworbenen funktionellen Eigenschaften bilden die Grundlage für eine aktive Mitwirkung der mononucleären Phagocyten bei den verschiedenen Manifestationen der zellulären Immunantwort. Der Mechanismus ihrer Einbeziehung in den zellulären Immunmechanismus besteht in der Kontaktaufnahme zu Komplexen, die sich aus dem Antigen und dem antikörperartigen Produkt zusammensetzen.

Abschließend soll zur Diskussion stehen, welche Konsequenzen sich für die Klinik aus den Erkenntnissen der immunologischen Grundlagenforschung ergeben. Die folgenden Ausführungen umfassen in willkürlicher Reihenfolge diagnostische, therapeutische sowie physiologische und pathophysiologische Aspekte.

Die immunologische Grundlagenforschung der letzten Jahre hat einwandfrei gezeigt, daß auf der Effektorseite an der zellulären oder zellvermittelten Immunantwort gegen ein be-

stimmtes Antigen folgende Zelltypen beteiligt sind:

1. Kleine Lymphocyten

2. mononucleäre Phagocyten.

Aufgrund der Ergebnisse von TURK und OORT (1970), PICK und TURK (1972) sowie VALDIMARSSON (1973) u. v. a. sind meistens zwei, vielleicht sogar noch mehr, verschiedene Lymphocyten-species für das Zustandekommen des morphologischen Bildes und der funktionellen Gegebenheiten der zellulären Immunantwort in allen ihren Manifestationen erforderlich.

Die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten (Effektorzellen) treten mit dem Antigen am Ort des Antigen-depots spezifisch in Reaktion. Als Folge dieses Kontaktes setzen sie ein Protein frei, bei dem es sich nicht um einen molekularen Antikörper handelt. Dieses Protein von PICK und TURK (1972) als antikörperartiges Produkt (AAP) bezeichnet, bildet mit dem spezifischen Antigen einen stabilen Komplex. Kommt nun eine andere, Faktoren produzierende Lymphocyten-species - sie gelangt aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften mit großer Wahrscheinlichkeit vor den spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten in den Bereich des Antigendepots - mit dem genannten Komplex in Kontakt, so setzen diese Lymphocyten Lymphokine frei. Bei den Lymphokinen handelt es sich um Wirkstoffe der zellulären Immunantwort. (VALDIMARSSON, 1973) Möglicherweise wandeln sich die Lymphocyten bei der Lymphokinfreisetzung blastoid um. Die Faktoren produzierende Lymphocyten-species proliferiert nach TURK und OORT (1970) synchron mit dem antigenstimulierten kleinen (immunkompetente Vorläuferzelle der Effektorzellen) im regionalen Lymphknoten.

Ein noch offenes Problem ist das der sogenannten "Killer-Lymphocyten". Gegenwärtig ist nicht bekannt, ob es sich dabei um Effektorzellen, um Faktoren produzierende Lymphocyten oder vielleicht um eine weitere Lymphocyten species handelt.

Die mononucleären Phagocyten sind für die Überempfindlichkeit vom Spättyp sowie für die cell-mediated immunity essentiell. Mit größter Wahrscheinlichkeit ist dies bei allen

Manifestationen, wenn auch noch nicht experimentell erwiesen, der Fall. Weitere Untersuchungen müssen hier Klarheit schaffen. Darüber hinaus muß den mononucleären Phagocyten, wie die weiteren Ausführungen zeigen sollen, bei der Bedeutung immunologischer Ergebnisse und bei der Beurteilung der Aussagekraft diagnostischer und prognostischer Tests, die auf immunologischen Gesetzmäßigkeiten beruhen, in Zukunft mehr Beachtung geschenkt werden.

Bei der cell-mediated immunity, die eine Manifestation der zellulären Immunantwort darstellt, handelt es sich um einen wirkungsvollen Immunmechanismus gegenüber dem infektiösen Zugriff der sogenannten facultativ und obligat intrazellulären mikrobiellen Krankheitserreger. (MACKANESS, 1964, 1968, 1969; NORTH, 1970, 1971 a,b; ROOS, 1970; MC. GREGOR et al, 1973; YODIM et al, 1973) Dazu gehören: Listerien, Brucellen, Mycobakterien, Pasteurellen, einige Salmonellen, bestimmte Protozoen u. a.. Die genannte Erregergruppe zeichnet sich dadurch aus, daß sie durch unstimulierte mononucleäre Phagocyten zwar phagocytiert, jedoch - im Gegensatz zu den sog. obligat extrazellulären Erregern - nicht intrazellulär abgebaut werden kann. (Übersicht s. ROOS, 1970) Dazu reicht ihr lysosomales Potential nicht aus. Deshalb vermehren sie sich ungehindert in den mononucleären Phagocyten und zerstören sie dabei. Auf diese Weise werden sie wiederum frei und der Phagocytosevorgang beginnt von neuem.

Humorale Antikörper gegen die Antigene der zur Diskussion stehenden Erregergruppe bewirken zwar eine schnellere Ingestion der Mikroben, auf ihre Digestion und damit auf die Überwindung der Infektionskrankheit haben sie keinen Einfluß. (MACKANESS, 1964; COLLINS und MACKANESS, 1970 a; TURK und OORT, 1970; MC. GREGOR et al, 1973)

Das Wesen der cell-mediated immunity als Immunmechanismus besteht nun darin, daß die Antigene der genannten Mikroben, wenn sie einen menschlichen oder tierischen Wirt auf natürlichem oder künstlichem Wege infizieren, eine zelluläre Immun-

antwort induzieren. Ihre Antigene führen zur Bildung von spezifisch sensibilisierten kleinen Lamphocyten. Durch die Kontaktaufnahme dieser mikrobiellen Antigene mit den Effektorzellen kommt es zur Aktivierung der mononucleären Phagocyten des Wirtes zu hochaktivierten oder zornigen, freien Macrophagen. (MACKANESS, 1969) Die Vorgänge, die sich dabei im Wirtsorganismus abspielen, sind folgendermaßen vorstellbar: Die Erreger gelangen bei natürlicher Infektion in ausreichender Zahl ins Gewebe und vermehren sich dort intrazellulär in daselbst befindlichen, unstimulierten, freien Makrophagen, die sie zunächst phagocytiert haben. Infolge der Zerstörung der freien Makrophagen werden sie wiederum frei. Die Erreger gelangen in die regionalen Lymphknoten. Dort wird eine zelluläre (und humorale) Immunantwort induziert. Schließlich gelangen die Erreger über die Lymphwege ins Blut. Es kommt zur hämatogenen Generalisation. Besonders in der Leber und in der Milz reichern sich die Erreger relativ an. Das ist durch die hohe Durchblutungsgröße dieser Organe und durch ihre Funktion als primäre Blutfilter bedingt. Für die experimentelle Listerieninfektion konnte das bewiesen werden. (NORTH, 1970 .) Deshalb entstehen in der Leber Herde von Erregern, in die spezifisch sensibilisierte kleine Lymphocyten, sobald sie einmal gebildet sind, sowie Faktoren produzierende kleine Lymphocyten einwandern.

Das mikrobielle Antigen tritt mit den Effektorzellen spezifisch in Reaktion; es kommt zur Liberation des A-A-P, das sich an das mikrobielle Antigen bindet. Der A-A-P-Antigen-Komplex stimuliert die Lymphokine produzierenden kleinen Lymphocyten zur Abgabe ihrer biogenen Stoffe. Daraus folgt die Anlockung von mononucleären Phagocyten durch das Chemotaxin und die Immunobilisierung derselben durch die Wirkung des MIF. Schließlich transformieren sich die mononucleären Phagocyten zu hochaktiven freien Makrophagen, nachdem sie zum AAP-Antigen-Komplex Kontakt aufgenommen haben. Dasselbe findet an allen Orten statt, an denen sich Erreger (Antigene) befinden. Die zornigen Makrophagen zeichnen sich, wie bereits

erwähnt, in qualitativer und quantitativer Hinsicht durch eine excessive Erhöhung ihres lysosomalen Enzymbestandes aus. Jetzt sind sie in der Lage, facultativ und obligat intrazelluläre mikrobielle Krankheitserreger effektiv abzubauen. Das bedeutet den Erwerb einer erworbenen, erhöhten Resistenz, d. h. einer Immunität.

Die soeben geschilderten Vorgänge, die zur Lokalisierung der Erreger und zur Überwindung der Infektionskrankheit führen, sind selbstredend nur Aspekte und erheben keinesfalls Anspruch auf Vollständigkeit.

Die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten sind die Mediatoren der zellulären Immunantwort, d. h. sie vermitteln die immunologische Spezifität. Die hochaktivierten mononucleären Phagocyten sind dagegen die Expressoren der Immunität. Ohne die letztere Zellart würde trotz des Vorhandenseins von Effektorlymphocyten kein Immunitätszustand zu erreichen sein. (NORTH, 1970, 1971, a,b) Der hohe Aktivierungsgrad wird durch die Kontaktaufnahme des Antigen-AAP- Komplexes - oder vielleicht mit dem AAP allein? - mit den mononucleären Phagocyten im Reaktionsbereich erreicht. Dem Komplex muß Induktorwirksamkeit auf die mononucleären Phagocyten zugeschrieben werden. Er holt gewissermaßen "das letzte" aus den genannten Zellen heraus.

Die cell-mediated immunity (hoher Aktivitätsgrad der mononucleären Phagocyten) hält nach einer Primärinfektion (immunologische Primärantwort) ca. 20 - 40 Tage an. Danach flaut sie ab, da das Antigen bis auf Reste abgebaut ist. Sie beginnt am 8 - 12 Tag nach der Infektion. Zur gleichen Zeit wird die cutane Überempfindlichkeitsreaktion vom Spätyp gegen das zur Infektion verwendete mikrobielle Antigen positiv. Eine Zweitinfektion mit dem Erreger (Antigen) der Erstinfektion ruft sie schon nach ca. 4 Tagen auf den Plan, d. h. es handelt sich um eine immunologische Secundärantwort. (MACKANESS, 1969)

Die cell-mediated immunity ist nur durch kleine Lymphocyten von Tieren, die eine Infektion überstanden haben,

passiv auf normale Rezipienten zu übertragen, d. h. sie sind die Mediatoren der Immunantwort und sie vermitteln die immunologische Spezifität. Der passive Transfer gelingt nur mit lebenden Zellen. Passive Transferversuche auf mit hohen Dosen ganzkörperstrahlte Rezipienten (Lymphocyten und Monocyten einschließlich deren Vorstufen im Knochenmark zerstört) zeigten eindeutig, daß Effektorlymphocyten und mononucleäre Phagocyten für das Zustandekommen der cell-mediated immunity unerlässlich sind.

Mit der Übertragung von kleinen Lymphocyten (Blut-, Milz- oder Lymphknotenlymphocyten) postinfektiöser Syngenetischer Tiere auf normale Rezipienten ist die passive Übertragung der Überempfindlichkeit im Hauttest untrennbar verbunden. Überempfindlichkeit und Immunität werden somit untrennbar durch kleine Lymphocyten übertragen.

Wird in einem Versuchstier eine Primärantwort gegen Listerien induziert, so läßt sich nur mit Listerien, d. h. mit dem Antigen der Erstimmunisierung, eine Sekundärantwort auslösen. Sind jedoch die mononucleären Phagocyten einmal aktiviert, so bauen sie auch andere Erreger der genannten Gruppe, mit denen sie noch keinen immunologischen Kontakt hatten, ebenso schnell ab. D. h. die Expressorfunktion ist immunologisch unspezifisch. (MACKANESS, 1968; NORTH, 1970 a,b,c; MC. GREGOR und COSTER, 1971; MC. GREGOR et al, 1973)

Zusammengefaßt hinterläßt der immunologisch beantwortete Kontakt eines Wirtsorganismus mit einem Erreger der genannten Gruppe folgende Veränderungen:

1. Eine Überempfindlichkeit vom Spättyp gegen das entsprechende mikrobielle Antigen, die im Hauttest nachweisbar ist und persistiert.
2. Eine erworbene Resistenz (vermittelte Immunität), die durch kleine Lymphocyten, jedoch nicht durch molekulare Antikörper enthaltendes Serum passiv übertragbar ist.

3. Eine zeitlich begrenzte der mikrobiziden Aktivität der mononucleären Phagocyten. Sie hält solange an, bis die mikrobiellen Antigene vollständig abgebaut sind und somit den immunkompetenten kleinen Lymphocyten nicht mehr zur Verfügung stehen.

Die Versuche von COLLINS und MACKANESS (1970 a, b), die mit Tuberkelbakterien durchgeführt wurden, bieten einige besonders interessante Aspekte. Zunächst führten die Autoren Untersuchungen zum Problem "Allergie und Immunität" bei der experimentellen Mäusetuberkulose durch. Sie prüften, ob eine Beziehung zwischen dem Grad der Überempfindlichkeit infizierter Mäuse gegen Tuberkuloprotein und ihrer Immunitätslage besteht. Als Bemessungsgrundlage für die Tuberkulinallergie diente die Intensität der Hautreaktion. Folgendes Ergebnis wurde erarbeitet: Es besteht keine Beziehung zwischen der Intensität der Hautreaktion und dem Grad der erworbenen Resistenz (Immunitätslage). Anders ausgedrückt: Die Hautreaktivität ist kein Gradmesser für die cell-mediated immunity. Die intravenöse Infektion von Mäusen mit Tuberkelbakterienstämmen verschiedener Virulenz (BCG, H37 Rv, Myk. tub. Stamm Erdmann) zeigte nämlich, daß bei allen in Versuch stehenden Tieren die Tuberkulinreaktion nach 8-10 Tagen positiv wurde. Das Intensitätsmaximum erreichten die Tiere nach 28 Tagen. Aus der Milz und der Lunge waren die Erreger bis zum 30. Tag an züchtbar. In der Leber konnten schon nach einigen Tagen keine Erreger mehr nachgewiesen werden. Bald danach schwächte die Tuberkulinreaktion ab, ohne jedoch negativ zu werden. Die Nachweisbarkeit der Erreger in den genannten Organen diente hier als Gradmesser der Immunität. Eine Zweitinfektion der Tiere mit 10^4 - 10^6 lebenden BCG führte schnell zu starker Hautreaktivität. Der Abbau in den untersuchten Organen verlief noch schneller. Die i. v. Infektion mit 10^8 BCG führte für einige Tage zur negativen Hautreaktion. Als die Hautreaktion wieder positiv wurde, waren die Erreger größtenteils abgebaut und zwar schneller,

als dies bei einer Infektionsdosis mit 10^4 - 10^6 Keimen geschah. Die Zeit der negativen Hautreaktion war somit durch eine besonders hohe Immunitätslage gekennzeichnet. Weitere Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis: Je höher die Zweitinfektionsdosis und je virulenter der Stamm, desto länger dauerte die Phase der negativen Hautreaktion bei besonders guter Immunitätslage, d. h. schnellem Abbau der Keime. Die Hautreaktion muß also nicht den Verlust der erworbenen Resistenz signalisieren.

Wurden nach einer Zweitinjektion in der Phase der negativen Tuberkulinreaktion (keine Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp auslösbar) ca. 10^8 Lymphocyten auf normale (nicht infizierte) Rezipienten übertragen, so erwiesen sich die Rezipienten ebenfalls als geschützt. Ferner reagierten sie im Hauttest stark positiv. Daraus folgt, daß die Überempfindlichkeit vom Spättyp und die zellvermittelte Immunität an die spezifisch sensibilisierten kleinen Lymphocyten gebunden sind.

Welche Aspekte ergeben sich nun für die Tuberkulose des Menschen aus den geschilderten Versuchen? Zunächst einmal ist festzuhalten, daß die Maus für Versuche mit Tuberkelbakterien ein besonders günstiges Tiermodell darzustellen scheint. Es ist fraglich, ob das auch bei anderen Labortieren der Fall ist.

Transferversuche auf bestrahlte Empfänger haben ergeben, daß die cell-mediated immunity gegen Tuberkelbakterien auf der Bildung spezifisch sensibilisierter kleiner Lymphocyten beruht, die die Mediatoren der zellulären Immunantwort sind und die immunologische Spezifität einschließen. Die hochaktivierten mononucleären Phagocyten sind die Expressoren der Immunität. Sobald es zur Bildung der Effektorlymphocyten gekommen ist, wird die Tuberkulinreaktion positiv. Die Autoren fanden jedoch, daß die bakterizide Aktivität immer dann besonders hoch war, wenn die Tuberkulinreaktion negativ ausfiel. Die Lösung des Problems erscheint nicht schwierig. Bereits NORTH (1970 a) fand, daß der Immitätsgrad eines Organs umso höher war, je mehr mononucleäre Phagocyten sich dort versammelt hatten. YOSHIDA et al (1969) wiesen nach, daß bei intravenös zuge-

fürten Antigenen die Monocyten zeitweilig aus dem Blut verschwinden und dorthin wandern, wo sich das Antigen relativ angereichert findet. Vor allem in Leber und Milz. Es scheint nun, ebenso wie bei der Durchblutungsregulation der Haut und der inneren Organ, zwischen dem Integument und den inneren Organen, hier Leber und Milz, ein Antagonismus zu bestehen. Wenn die mononucleären Phagocyten in Milz und Leber benötigt werden, um in die Blutbahn eingedrungene, mikrobielle Antigene abzubauen, bleiben für das Integument nicht genug übrig. Somit fehlt eine essentielle Zellart für das Zustandekommen der cutanen Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp in einem immunologischen reaktionsfähigen Organismus.

Weiterhin stellt sich die Frage, welche Beziehungen zwischen Allergie und Immunität bei der Tuberkulose bestehen. So günstig wie bei der Maus ist es bei anderen Labortieren und beim Menschen nicht. MACKANESS (1969) stellte fest, daß virulente Tuberkelbakterien, was ihren Abbau durch hochaktive Makrophagen betrifft, außerordentlich widerstandsfähig sind. Es kommt nur zu einem ganz langsamen Abbau und zu einer Vermehrungshemmung. Auf diese Weise stellt sich ein stabiles Gleichgewicht zwischen intrazellulär befindlichem Erreger und dem Wirt ein. Wenn das Makrophagensystem oder die lymphocytäre Komponente defekt oder nicht den ständigen Anforderungen angepaßt ist, so wird ohne Therapie ein schwerer Krankheitsverlauf bzw. der letale Ausgang verständlich. Es ist aber auch denkbar, daß zu Beginn oder während einer Tuberkulose die Erreger des öfteren wieder frei werden und den antigenerkennenden Formationen des Immunsystems gewissermaßen permanent zur Verfügung stehen. Auf diese Weise kommt es zur Antigenpersistenz und zu einer stark angeregten, dauernden Bildung von Effektor- und Faktoren produzierenden Lymphocyten. Der ständige Antigen-Immunzell-Kontakt, beispielsweise in der Lunge, führt zur verstärkten, nicht mehr tolerierbaren Freisetzung von Lymphokinen. Da diese Stoffe in ihrer Gesamtheit entzündungserregende Wirkung besitzen, wäre es denkbar, daß durch die überschießende Immunreaktion eine Tendenz

zur Verschlimmerung und Propagation der Tuberkulose geschaffen wird. Das wäre eine denkbare Erklärung für eine Hyperergie, die eine Pathergie in sich schließt. (s. LETTERER, 1959) Der Grund dafür ist die Abbauschwierigkeit der Tuberkelbakterien auch durch aktivierte Makrophagen, die im Sinne einer Antigenpersistenz wirkt, so daß sich dadurch die Bildung der Effektorlymphocyten immer mehr aufschaukelt und zu große Mengen an Lymphokinen frei werden. Bei anderen obligat intrazellulären Erregern besteht diese Abbauschwierigkeit nachweislich nicht. (s. ROOS, 1970) Möglicherweise werden dadurch auch vegetative Regulationen, wie die Ausschüttung von Nebennierenrindenhormonen, für den Krankheitsverlauf ungünstig beeinflußt. Könnte man, falls das zutreffen sollte, vielleicht durch ganz gelinde Immunsuppression zu Beginn der Erkrankung den Verlauf einer Tuberkulose in manchen Fällen günstiger gestalten?

Schließlich ist die Überempfindlichkeit vom Spättyp und die cell-mediated immunity an eine Zelle gebunden. In diesem Zusammenhang zeigten COLLINS und MACKANESS (1970 b), daß ein BCG-Impfstoff, der nicht zu einer Überempfindlichkeit vom Spättyp führt, auch keine cell-mediated immunity herbeiführt. Eine positive Hautreaktion kann somit bedeuten, daß der Organismus sich zur Zeit nicht mit Tuberkelbakterien auseinandersetzen muß oder daß im Organismus Tuberkelbakterien vorhanden sind und auch einmal dem Immunsystem zugänglich werden. Er hat jedoch die Infektion unter Kontrolle, d. h. es sind noch mononucleäre Phagocyten für die Hautreaktion übrig. Ein negativer Hauttest kann bedeuten, daß der Organismus sich in einem Abwehrkampf gegen die Erreger befindet. Dabei lokalisiert er die Zellen in den inneren Organen, so daß keine Monocyten für die Hautreaktion übrig bleiben. Diese negative Reaktion muß nach den Versuchen von COLLINS und MACKANESS (1970 a, b) als ein prognostisch günstiges Zeichen aufgefaßt werden. Daneben ist eine negative Reaktion denkbar, die auf eine Erschöpfung der Zell-

bildung (Monocyten und/ oder Effektorlymphocyten) hinweist und somit prognostisch schlecht ist. Überempfindlichkeit mit erhöhter Krankheitsbereitschaft ist dann anzunehmen, wenn es zu langer Antigenpersistenz bei guter immunologischer Reizbeantwortung kommt. Dabei wären positive wie negative Hautreaktionen denkbar.

Letztlich scheint die Abbaufähigkeit eines mikrobiellen Antigens durch Phagocyten der Schlüssel zu der Frage zu sein, ob Überempfindlichkeit eine harmlose Begleiterscheinung einer Infektion ist oder ob sie ein Gefahrenmoment darstellt.

Aufgrund des Versuchs von YOSHIDA et al (1969) sollte man diagnostische Hauttestungen mit Tuberkulin nicht kurz vor oder nach Antigengaben wie aktive oder passive Schutzimpfungen, besonders mit Lebendvaccinen, durchführen. Dasselbe gilt auch während der Inkubationszeit von cyclischen Infekten (KUPERS et al, 1970)

Eine negative Tuberkulinreaktion während eines cyclischen Infekts kann ferner ein Hinweis dafür sein, inwieweit das zelluläre Immunsystem an seiner Überwindung beteiligt ist. Als Ursache dafür wird die Inanspruchnahme der Monocyten im Bereich der primären Blutfilter angesehen.

Bei einigen Virusinfekten (Masern, Windpocken, Röteln, Grippe, infektiöse Mononucleose, Poliomyelitis sowie Schutzimpfungen gegen die genannten Infekte mit Lebendvaccine) ist die Tuberkulinreaktion und andere, auf dem zellulären Immunmechanismus beruhende Hautteste, vorübergehend abgeschwächt bis aufgehoben. Bei Anstellung einer Lymphocytenkultur fällt auf, daß die Lymphocyten von Patienten mit den genannten während der akuten Krankheitsphase mit Phytohämagglutin (PHA) vermindert oder überhaupt nicht blastoid sind. (MONTGOMERY et al, 1967; OLSON et al, 1967, 1968; SIOMONS, 1968; SIMONS und FITZGERALD, 1968; FIREMAN et al, 1969; REVILLARD, 1971) Am ausgeprägtesten treten diese Effekte bei den Masern auf. Klinische Beobachtungen haben zu der Erkenntnis geführt, daß

mit dem negativen Ausfall der Tuberkulinreaktion ein Zustand vorübergehender immunologischer Insuffizienz verbunden ist. Es ist nämlich bekannt, daß beispielsweise eine Tuberkulose exacerbieren kann und auch sonst eine verminderte Abwehr gegenüber bakteriellen Infekte besteht.

Auf experimenteller Basis bieten sich dafür folgende Erklärungsmöglichkeiten an:

1. Eine virale Kontamination der kleinen Lymphocyten während der Phase der Virämie.
2. Das Auftreten von Hemmkörpern während des Infektes, bei denen es sich sowohl um molekulare Antikörper als auch um hemmende Substanzen anderer Art handeln kann.
3. Ein temporärer Monocytenmangel im infizierten Organismus. In der unter Punkt 1 genannten Erklärungsmöglichkeit liegen folgende Experimente vor: Wenn in vitro mit PHA versetzten menschlichen Lymphocyten, die von gesunden Personen, lebende Viren zugesetzt wurden, so konnte ihre blastoide Umwandlung vollständig behindert werden. (MONTGOMERY et al, 1967; SMITH-WICK und BERKOVICH, 1966) MELLA und LANG (1967) sowie WILLEMS et al (1969) berichteten, daß Plasma von Patienten mit akuter Hepatitis die Stimulierung der von gesunden Spendern stammenden Lymphocyten durch PHA behinderten. Dieser Effekt wurde so gedeutet, daß das Plasma von an Hepatitis erkrankten Personen Viren enthält. WILLEMS et al (1969) zeigten darüber hinaus, daß viele DNA- und RNA-Viren die blästoide Umwandlung völlig unterdrückten, wenn sie den Kulturen in-vitro zugesetzt wurden. Bestimmte Viren replizierten ferner in kleinen Lymphocyten; einen cytopathogenen Effekt (CPE) brachten sie jedoch nicht hervor.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit bietet die Bildung inhibitorischer Substanzen im Verlauf der Infektion. Dabei kann es sich um molekulare Antikörper mit cytotoxischer Wirkung auf Lymphocyten, um Antigen-Antikörper-Komplexe, die sich an Lymphocyten binden und diese dadurch beeinflussen oder um andere Substanzen mit lymphotoxischer Wirkung handeln. Es ist

kennzeichnend für die genannten inhibitorischen Substanzen, daß sie nur in Verbindung mit dem Infekt auftreten und danach nicht mehr nachzuweisen sind. (MOTTIRON und TERASAKI, 1970, Zit. n. REVILLARD, 1971; KRETSCHMER et al, 1969).

Weiterhin ist daran zu denken, daß auch die mononucleären Phagozyten das Stimulationsergebnis beeinflussen. FINKEL und DENT (1973), die die bisher erhaltenen Stimulationsergebnisse noch einmal kritisch überprüften, kamen zu dem Schluß, daß die kleinen Lymphozyten von Patienten mit einem Virusinfekt sich immer dann nicht durch PHA blastoid umwandeln ließen, wenn keine Monocyten in den Kulturen vorhanden waren. Bei Anwesenheit von Monocyten ließ sich stets ein normales Stimulationsergebnis nachweisen. Über eine regulatorische Rolle bei der in-vitro-Cytotoxizität kleiner Lymphocyten berichteten kürzlich auch LONAI und FELDMAN (1970). Negative in-vitro-Stimulationsergebnisse könnten demnach auf die temporäre Abwesenheit der Monocyten aus dem strömenden Blut oder auf eine virusbedingte Schädigung der Monocyten zurückzuführen sein. Es ist nämlich gut vorstellbar, daß die Monocyten im Rahmen der Virämie dringend in den primären Blutfiltern, Milz und Leber, benötigt werden und damit im Blut unterrepräsentiert sind. Auch bei Virusinfekten spielt die cell-mediated immunity eine gewichtige Rolle, obwohl sie die ebenfalls gegen Viren gebildeten neutralisierenden Antikörper im Gegensatz zu den Infekten mit fakultativ oder obligat intrazellulären bakteriellen Krankheitserregern Schutzfunktion besitzen. Andererseits ist es eine Tatsache, daß Kinder mit angeborener Agammaglobulinämie einen normalen Masernverlauf zeigen (BURNET, 1973). ALLISON et al (1969) stellten im Verlauf der genannten Virusinfektionen zunehmende viruzide Aktivität der mononucleären Phagocyten fest, verbunden mit den morphologischen Merkmalen der Aktivierung. Zu Beginn des Infektes wurden Phagocyten von den Viren so geschädigt, daß sie zugrunde gingen. Diese Ausführungen zeigen klar, daß es im Verlauf der

genannten Virusinfekte mehrere Möglichkeiten gibt, die zu einer temporären Immuninsuffizienz führen, und die mit abgeschwächten Hautreaktionen in behinderter Lymphozytenstimulation einhergehen.

Bei Patienten mit chronischer Mucocandidiasis treten sehr interessante immunologische Defektsituationen auf. Die wesentlichen Befunde sind der negative Ausfall von Hautreaktionen (Tuberkulinreaktionen u.a.), eine oft verlängerte Überlebenszeit von Hautallotransplantaten, keine Behinderung der in-vitro-Stimulierbarkeit kleiner Lymphocyten durch PHA und ein Fehlen der Faktorenliberation (Lymphokine) nach spezifischer oder unspezifischer Stimulierung der Patientenlymphocyten in vitro. Es gibt auch Fälle, bei denen die Tuberkulinreaktion positiv ist, jedoch jegliche Hautreaktivität gegen die Antigene von *Candida albicans* fehlt. Die Lymphocyten sind hier zwar blastoid umwandelbar, Lymphokine werden jedoch nicht produziert. Daraus folgt, daß entweder die Faktoren produzierende Lymphocytenspecies nicht vorhanden ist oder im Sinne der Unfähigkeit zur Lymphokinproduktion defekt ist. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß sie zwar Lymphokine produzieren kann, jedoch keine Rezeptoren zur Kontaktaufnahme mit dem A-A-P-Antigen-Komplex besitzt. Schließlich ist daran zu denken, daß die Effektorzellen gegen *Candida*-Antigene entweder im Sinne einer immunologischen Lücke nicht gebildet werden können, oder daß sie vorhanden und blastoid umwandelbar sind, jedoch nicht in der Lage sind, das AAP zu bilden. Weiterhin bestätigen die Befunde bei der chronischen Mucocandidiasis die Rolle der Lymphokine als Wirkstoffe der zellulären Immunantwort und unterstützen den von TURK und PICK (1972) formulierten 2 Zellen-Kooperationsmechanismus bei der zellulären Immunantwort. (CHILGREN et al, 1967; BUCKLEY et al, 1968; CHILGREN und MEUWISSEN, 1969; MARMOR und BARNETT, 1968; KIRKPATRICK et al, 1970; VALDIMARSSON et al, 1973)

Die Verhältnisse bei der chronischen Mucocandidiasis zeigen eindringlich, wie mannigfaltig die Störungen im zellulären

Immungeschehen bei einem einheitlichen Krankheitsbild sein können. Ferner weisen die Verhältnisse bei den besprochenen Virusinfekten darauf hin, daß ganz verschiedene Ursachen zur temporären Immuninsuffizienz führen können; oft wirken sie zusammen. Aufgrund dieser wenigen Beispiele mag deutlich werden, daß jede Immuninsuffizienz, sei sie primär oder sekundär, gewissermaßen ihr eigenes problematisches Gesicht hat. Deshalb müßten weitere Ausführungen zum Thema Immuninsuffizienz den Rahmen dieser Diskussion weit überschreiten und müssen unterbleiben. Es sei jedoch noch darauf hingewiesen, daß heute bestimmte primäre Immuninsuffizienzen, die auf Defektsituationen im Thymus zurückzuführen sind, durch eine Thymustransplantation geheilt werden können. (GOLDSTEIN, 1972) Die Verhältnisse bei sekundärer Immuninsuffizienz - chronische lymphatische Leukämie, M. Hodgkin, Sarkoidose u.v.a. - sind ähnlich kompliziert. Schließlich ist die Immuntherapie maligner Tumoren zu erwähnen. Die Fortschritte, die hier erzielt wurden, erscheinen beachtlich. (KLEIN und KLEIN, 1972; HELLSTRÖM und HELLSTRÖM, 1972; MEISS et al, 1973; GROB et al, 1973; WAHLSTRÖM et al, 1973 u.a.) Wenn auch ein durchschlagender Erfolg nicht in allernächster Zeit erwartet werden kann, so läßt sich dennoch sagen, daß die Immuntherapie des Krebses ein Erfolg versprechender Weg ist. Immunologische Methoden werden auch bei der Früherkennung maligner Tumoren gute Dienste leisten. Zur Zeit muß jedoch die weitere Erforschung des zellulären Immunmechanismus und aller seiner Besonderheiten an erster Stelle stehen. Erst dann wird es möglich sein, nach den jeweiligen Erfordernissen der Klinik diese Immunantwort hemmend, verstärkend oder substituierend zu beeinflussen.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, durch ein "Blockadeexperiment" mit Trypanblau bei Meer-schweinchen eine Funktionsstörung bzw. den Funktionsverlust der mononucleären Phagocyten herbeizuführen, um auf diese Weise den Einfluß dieser Zellen auf das Zustandekommen einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp zu untersuchen. Die Sensibilisierung der Tiere erfolgte mit BCG der Behringwerke AG. Als Testreaktion diente die Tuberkulin-Reaktion, die mit Tuberkulin GT der Behringwerke AG ausgelöst wurde. Die Versuche zeigten, daß, je nach den speziellen Versuchsbedingungen, bei den mit Trypanblau behandelten Tieren die Tuberkulinreaktion völlig fehlte bzw. erheblich abgeschwächt war. Die Kontrolltiere wiesen dagegen alle gewohnte Reaktivität auf. Aufgrund des Versuchsergebnisses wird die Rolle der mononucleären Phagocyten beim Zustandekommen einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp diskutiert. Darüber hinaus wird auf ihre Bedeutung bei den anderen Manifestationen der zellulären Immunantwort eingegangen.

Literaturverzeichnis

- 1) Ada, G.: Antigen Binding Cells in Tolerance and Immunity, Transplant Rev., 5, 1970, S. 105-130
- 2) Adams, D. O., Biesecker, J. L. and Koss, L. G.: The differentiation of mononuclear phagocytes in vitro, effects of lymphokines. Fed. Proc., Fed. Amer. Soc. Exp. Biol., 29, 1970, S. 359(abstr.)
- *)
- 3) Andersen, W. and Matthiesen, M. E.: The histiocyte in human fetal tissues. Its morphology, cytochemistry, origin, function and fate, Z. Zellforsch. 72, 1966, S. 193-200
- 4) Arnason, B. G., Jancovic, B. D., Waksman, B. H.: The role of the thymus in immune reactions in rats. In: The thymus in immunobiology (eds. R. A. Good and A. E. Gabrielsen), S. 492-501, New York: Hoeber-Harper 1964
- 5) Asconas, B. A. and Jaroskova, L.: Antigen in macrophages and antibody induction. Conf. on mononuclear Phag., Leiden 1969. Blackwell scient. publ. Oxford and Edinburg (ed.: R. v. Furth), S. 595-612
- 6) Asherson, G. L. and Allywood, G. G.: The migration behaviour of lymphoid and peritoneal exudate cells. In: Conference on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg., S. 240-252
- 7) Asherson, G. L. and Coewi, G.: The Effect of Irradiation on the Passive Transfer of Delayed Hypersensitivity, Immunol., 13, 1967, S. 509-512
- 8) Asherson, G. L. and Zembala, M.: The role of macrophages in delayed-type hypersensitivity. Conference on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxford and Edinburg, (ed. R. v. Furth), S. 495-510
- 9) Aschoff, L.: Das Reticuloendotheliale System. Erg. Inn. Med. u. Kinderh., 16, 1924, S. 1-118
- 10) Astaldi, G. and Airo, R.: Phytohemagglutinin in leukämia. Lancet 1, 1966, S. 1103
- 11) Astaldi, G. Costa, G., Airo, R. and Duate, N.: Is the defective reaction to PHA shown by the lymphocytes from lymphatic leukämia depending on their innate structure, or on plasmatic characteristics? Acta med. Scand. 445, 1966, S. 320-325
- *) Allison, A.C.: On the role of macrophages in some Pathological processes, in: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. S. 422-439, Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg.

- 12) Bach, J. F.: Antigen-binding cells. In: Cell-mediated immunity. In vitro correlates. S. Karper Verlag, 1971 (ed.: J. P. Revillard), S. 51-74
- 13) Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1967, S. 1-73, 92-155
- 14) Barnet, K., Pekarek, J. and Johanovsky, J.: Demonstration of Specific Induction of Erythrocytes, Phagocytosis by Macrophages from Normal Non Sensitized by a Factor Released from Lymph-Node cells of immuned Rabbits. *Experientia*, 24, 1968, S. 948-949
- 15) Bartfeld, H. and Atoynehan, T.: Cytophilic nature of migration inhibitory factor associated with delayed hypersensitivity. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y., 130, 1969, S. 497-501
- 16) Bartfeld, H. and Atoynehan, T.: Cellular immunity. Activity and properties of humans migration inhibitory factor. *Int. Arch. Allergy*, 38, 1970, S. 549-553
- 17) Bartfeld, H. and Kelly, R.: Mediation of delayed hypersensitivity by peripheral blood lymphocytes in vitro and by their products in vivo and in vitro, morphology of in vitro lymphocyte-macrophage. *J. Immunol.*, 100, 1968, S. 1000-1005
- 18) Baumgarten, A. and Wilhelm, D. L.: Vascular permeability responses in hypersensitivity. I. The tuberculin reaction *Pathology (Sydney)*, 1/4, 1969, S. 301-315
- 19) Beletskaya, L. V., Semina, N. A. and Smirnova, M. N.: Cellular reaction of delayed type hypersensitivity in Guinea pigs sensitized with streptococcal allergen. *Ark. Pat. (Moskau)*, 31/6. 1969, S. 52-57 entnommen aus: *Immunology, Seology and Transplantation*. Sect. 26, Vol. 4 Nr. 5, May 1970
- 20) Bennett, B and Bloom, B. R.: Reactions in vivo and in vitro produced by a soluble substance associated with delayed-type hypersensitivity. *Proc. nat. Acad. Sci.*, Wash. 59, 1968, S. 756-762
- 21) Bennett, W. E. and Cohn, Z. A.: The isolation and selected properties of blood monocytes. *J. exp. Med.*, 123/I, 1966, S. 145-159
- 22) Bennhold, H.: Über die Bedeutung von physiologischen und künstlichen Kolloiden (Periston) zur Regelung von Transportvorgängen im tierischen Organismus. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1951, S. 1485-1487

- 23) Bennhold, H., Ott, H. und Wiech, H.: Über den Bindungs-
unterschied lebergängiger und nierengängiger Substanzen
an die Serumeiweißkörper. Dtsch. Med. Wschr., 1950,
S. 11-15
- 24) Bennhold, H., Seybold, G.: Über die Beeinflussung von
vitaler Farbstoffspeicherung in der Tubuluszelle der
Niere durch Zusatz von Serumeiweiß. Verh. dtsch. Ges.
Inn. Med., 56, 1951, S. 182-184
- 25) Bennhold, H. und Seybold, G.: Der Aufnahmemechanismus
plasmaeiweiß gebundener Vitalfarbstoffe in speichernde
Zellsysteme. Z. exp. Med., 118, 1952, S. 407-424
- 26) Bianco, C., Patrick, B. and Nussenzweig, V.: A popu-
lation of lymphocytes bearing a membrane receptor for
antigen-antibody-complement complexes. J. exp. Med.,
132, 1970, S. 702-720
- 27) Biberfeld, A., Holm, G. and Perlmann, P.: Morphological
observations on lymphocyte peripolexis and cytotoxic
action in vitro. Exp. cell. Res., 52, 1968, S. 672-677
- 28) Blanden, R. V.: Modification of macrophage function.
J. Reticuloend. Soc., 5, 1968, S. 179-186
- 29) Blanden, R. V., Lafford, M. J. and Mackaness, G. B.:
The host response to balmette-Guerin bacillus infection
in mice. J. exptl. Med., 129, 1969, S. 1079-1108
- 30) Blaskovec, H. H., Hulliger, L. and Sorkin, E.: A study
of the Passive Cellular Transfer of local cutaneous
hypersensitivity. III. Transfer of Hypersensitivity to
Sheep Erythrocytes with Different cell types. Int. Arch.
Allerg., 33, 1968, S. 259-280
- 31) Blaskovec, H. and Schedgik, K.: A study of the Passive
Cellular Transfer of local cutaneous hypersensitivity.
V. Passive Transfer of delayed, Jones-Mote and immedia-
te hypersensitivity in inbred Guinea-Pigs. Int. Arch.
Allergy, 38, 1970, S. 345-360
- 32) Bloch-Stacher, N., Hirschborn, K. and Uhr, J. w.:
The response of lymphocytes from non-immunized humans
to antigen-antibody-complexes. Clin. exp. Immunol.,
3, 1968, S. 883-897
- 33) Bloom, B. R.: In vitro approaches to the mechanism of
cell-mediated immune reactions. Adv. Immunol., Vol. 13,
1971a, S. 100- 208
- 34) Bloom, B. R.: In vitro approaches to the mechanism of
cell-mediated immune reactions. In Advances in Immuno-
logy (F. J. Dixon and H. G. Kunkel, eds.) Academic
Press, New York and London, Vol. 13, 1971b, S. 170-172

- 35) Bloom, B. R. and Bennett, B.: Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science* 135, 1966, S. 80-82
- 36) Bloom, B. R. and Bennett, B.: Migration inhibitory factor associated with delayed-type hypersensitivity. *Fed. Proc.* 17, 1968, S. 13-15
- 37) Bloom, B. R. and Bennett, B.: Relation of the Migration Inhibitory Factor (MIF) for Delayed-Type Hypersensitivity Reactions. *Am. N. Y. Acad. Sci.*, 169, 1970, S. 258-265
- 38) Bloom, B. R. and Bennett, B.: Macrophages and delayed-type hypersensitivity. *Sem. Haematol.*, 7, 1970, S. 215-227
- 39) Bloom, B. R., Bennett, B., Oettgen, H. F., Mc. Lean, E. P. and , L. J.: Demonstration of delayed hypersensitivity to sublethal antigens of chemically induced tumors by inhibition of macrophage migration. *Proc. Nat. Acad., U. S.*, 64, 1969, S. 1176-1180
- 40) Bloom, B. R. and Chase, M. W.: Transfer of delayed-type hypersensitivity. A critical review and experimental study in the Guinea-pig. *Progr. Allergy*, 10, 1967, S. 151-255
- 41) Bloom, B. R., Hamilton, L. D. and Chase, M. W.: Effects of mitomycin C on the cellular transfer of delayed-type hypersensitivity in the Guinea-pig. *Nature (Lond.)*, 201, 1964, S. 689-691
- 42) Bloom, B. R. and Jiminez, L.: Migration Inhibitory Factor and the Cellular Basis of delayed-type hypersensitivity Reactions. *Amer. J. Pathol.*, 60, 1970, S. 453-468
- 43) Bloom, B. R., Jiminez, L. and Marcus, P. J.: A plaque assay for enumerating antigen-sensitive cells in delayed-type hypersensitivity. *J. exp. Med.* 132, 1970 S. 16-30
- 44) Borel, Y. and David, J. R.: In vitro studies of the suppression of delayed hypersensitivity by the induction of partial tubercule. *J. exp. Med.*, 131, 1970 S. 603-610
- 45) Boros, D. L. and Warren, K. S.: Effect of antimacrophage serum on hypersensitivity (schistosoma mansoni egg) and foreign body (divinyl-benzene copolymer bead) Granulomas, *Be. Jof. Immunol.*, 102, 1971, S. 534-539

- 46) Bosman, E. and Feldmann, J. D.: Komposition, Morphology, and Source of Cells in Delayed Skin Reactions. Amer. J. Pathol., 58, 1970, S. 201-218
- 47) Bowden, D. H., Davies, E. and Wyatt, J. P.: Cytodynamics of Pulmonary Alveolar Cells in the Mouse. Arn. of Path., 86, 1968, S. 667-670
- 48) Braun, J. C., de Jesus, D. G., Holborow, E. J. and Harris, G.: Lymphocyte-mediated transport of aggregated human j-globulin into germinal centre areas of normal mouse spleen. Nature (Lond.), 228, 1970, S. 367-377
- 49) Braunsteiner, H. und Schmalzl, F.: Das Problem der Monocyten, Dtsch. med. Wschr., 93, 1968, S. 456-457
- 50) Braunsteiner, H. und Schmalzl, F.: Cytochemistry of monocytes and macrophages. In: Conference on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell Scient. publ. Oxf. and Edinb., S. 62-81
- 51) Brun, J., Biot, N., Carraz, M., Veyssere, C., Prevot, J., Perrin-Fayolle, M. et Traeger, J.: La lymphocytotoxicité du serum et son evolution au cours de la sarcoidose ganglio-pulmonaire. Lyon Med. 4, 1969, S. 141-157
- 52) Brunner, K. T., Maurel, J., Rudloff, H. and Chapuis, B.: In: Cellular Recognition (eds. R. T. Smith and R. A. Good) Appleton New York, S. 243. Zit. n. Bloom, 1971
- 53) Brunner, K. T., Nordin, A. A. and Cerottini, J. C.: Int. Convac. Immunol. 2nd 1970 (in press), Zit. n. Bloom, 1971
- *)
54) Cerottini, J. C.: Methodes for study of mediators. In: In vitro methodes in cell-mediated immunity. (eds. B. R. Bloom and P. Glade), Acad. Press, New York, 1971, S. 47
- 55) Cerottini, J. C., Nordin, A. A. and Brunner, K. T.: Specific in vitro Cytotoxicity of Thymus-derived Lymphocytes sensitized to Alloantigens. Nature (Lond.) 228, 1970, S. 1308-1309
- 56) Chaparas, S. D., Thor, D. E. and Hedrick, S. R.: Comparison of Lymphocyte Transformation, Inhibition of Macrophage Migration and Skin Tests using dialyzable and nondialyzable Tuberkulin Fractions from Mycobacterium bovis. J. of Immunol., 107, 1971, S. 149-153
- *) **Burnet, Sir Macfarlane: Körpereigene und körperfremde Substanzen bei Immunprozessen. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1973, S. 26**

- 57) Chilgren, R. A., Meuwissen, H. J., Quie, P. G., Good, R. A. and Hong, R.: The cellular immune defect in Chronic mucocutaneous candidiasis. *Lancet* i, 1969, S. 1286-1288
- 58) Chilgren, R. A., Quie, P. G., Meuwissen, H. J. and Hong, R.: Chronic mucocutaneous candidiasis, deficiency of delayed hypersensitivity, and selective local antibody defect. *Lancet* ii, 1967, S. 688-693
- 59) Cochrane, C. G.: Mediators of the Arthus and related reactions. *Progr. Allergy*, 11, 1967, S. 1-15
- 60) Coe, J. E., Feldmann, J. D. and Lee, S.: Immunologic competence of thoracic duct cells. I. Delayed hypersensitivity. *J. exp. Med.*, 123, 1966, S. 267-281
- 61) Cohen, S., Mc. Cluskey, K. T. and Benecerraf, B.: Studies on the specificity of the cellular infiltrate of delayed hypersensitivity reactions. *J. Immunol.*, 98, 1967, S. 269-273
- 62) Cohn, Z. A.: The regulation of pinocytosis as defined in mouse macrophages. I. Metabolic requirements as defined by the use of inhibitors. *J. exp. Med.*, 124, 1966/II, S. 557-571
- 63) Cohn, Z. A.: The structure and function of monocytes and macrophages. In: *Advances in Immunology* (eds. F. J. Dixon and H. G. Kunkel), Vol. 9 New York, Academic Press, 1968, S. 163-214
- 64) Cohn, Z. A. and Benson, B.: The differentiation of mononuclear phagocytes. *J. exp. Med.*, 121, 1965/I a, S. 153-169
- 65) Cohn, Z. A. and Benson, B.: The in vitro differentiation of mononuclear phagocytes. III. Reversibility of Granulocyte and hydrolytic enzyme formation and the turnover of tissue constituents. *J. exp. Med.*, 122, 1965/Ib, S. 455-466
- 66) Cohn, Z. A. and Ehrenreich, B. A.: The uptake, storage and intracellular hydrolysis of Carbohydrates by macrophages. *J. exp. Med.*, 129, 1969/I, S. 201-218
- 67) Cohn, Z. A., Fedorko, M. E. and Hirsch, J. G.: The in vitro differentiation of mononuclear phagocytes. V. The formation of macrophage Lysosomes. *J. exp. Med.*, 123, 1966/II, S. 757-766

- 68) Cohn, Z. A. and Parks, E.: The regulation of pinocytosis in mouse macrophages. II. Factors inducing vesivle formation. J. exp. Med., 125, 1967 a, S. 213-230
- 69) Cohn, Z. A. and Parks, E. : The regulation of pinocytosis inmouse macrophages. III. The induction of vesicle formation by nucleosides and nucleotides. J. exp. Med., 125, 1967 b, S. 457-466
- 70) Cohn, Z. A. and Wiener, E.: The particulate hydrolysis of macrophages. I. Comparative enzymology, isolation and properties. J. exp. Med., 118, 1963/II, S. 991-1008
- 71) Collins, F. M. and Mackaness, G. B.: The relationship of delayed hapersensitivity to acquired antituberculous immunity. I. Tuberculin sensitivity and resistance to Reinfection in BCG-vaccinated mice. Cell. Immunol., 1, 1970 a, S. 253-265
- 72) Collins, F. M. and Mackaness, G. B.: The relationship of delayed hypersensitivity immunity. II. Effect of adjuvant on the allergenicity and immunogenicity of heat killed tubercle bacilli. Cell. Immunol., 1, 1970 b, S. 266-275
- 73) Cooper, M. D., Peterson, R. D. A., South, M. A. and Good, R. A.: The functions of the feymus system and the bursa system in the chicken. J. exp. Med. 123, 1966, S. 75-102
- 74) Costello, R. and Izumi, T.: Measurment of resistance to experimental tuberculosis in albino mice. J. exp. Med., 133, 1971, S. 362-369
- 75) Cottier, H., Hess, M. W., Roos, B. und Sordat, B.: Die zellularen Grundlagen der immunbiologischen Reizbeantwortung. Verh. dtsh. Ges. Path., 54, 1970, S. 1-27
- 76) Cottier, H., Odartschenko, N., Kaiser, F., Hess, M. and Stoner, R. D.: Incorporation of tritiated nucleosides and amino acids into lymphoid and plasmocytoid cells during secondary response to tetanus toxoid in mice. Am. N. Y. Acad. Sci., 113, 1964, S. 612-626
- 77) Daems, W. Th. and Bredero, P.: The fine structures of mononuclear phagocytes as revealed by freeze-etching. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 461-477

- 78) Dannenberg, A. M. Jr.: Cellular hypersensitivity and cellular immunity in the pathogenesis of tuberculosis. Specificity, Systemic and local nature, and associated macrophage enzymes. *Bact. Rev.*, 32, 1968, S. 85-102
- 79) David, J. R.: Suppression of delayed hypersensitivity in vitro by inhibition of protein synthesis. *J. exp. Med.*, 122, 1965, S. 1225-1255
- 80) David, J. R.: Delayed hypersensitivity in vitro: Its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen-interaction. *Proc. nat. Acad. Sci., Wash.*, 56, 1966, S. 72-77
- 81) David, J. R.: Macrophage migration. *Fed. Proc.*, 27, 1968, S. 6-12
- 82) David, J. R.: The role of Macrophages in Delayed Hypersensitivity Reactions. In: *Conf. on mononuclear Phagocytes*, Leiden 1969. Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg., S. 486-494
- 83) David, J. R., Al Askari, D., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: Delayed hypersensitivity in vitro. I. The specificity of inhibition of cell migration by antigens. *J. Immunol.*, 93, 1964, S. 264-273
- 84) David, J. R., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: Delayed hypersensitivity in vitro. II. Effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen. *J. Immunol.*, 93, 1964a, S. 274-278
- 85) David, J. R., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: Delayed hypersensitivity in vitro. III. The specificity of hapten-protein conjugates in the inhibition of cell migration. *J. Immunol.*, 93, 1964 b, S. 279-282
- 86) Davies, A. S. J., Carter, R. L., Leuchars, E. and Wallis, V.: The morphology of immune reactions in normal, thymectomized and reconstituted mice. II. The response to oxazolone. *Immunol.*, 17, 1969, S. 111-126
- 87) Diengdoh, J. v. and Turk, J. L.: The immunological significance of lysosomes within lymphocytes in vivo. *Nature (Lond.)* 207, 1965, S. 1405-1406
- 88) Diengdoh, J. v. and Turk, J. L.: Electrophoretic Mobility of Guinea-Pig Peritoneal Exsudate Cells in Hypersensitivity Reactions. *Int. Arch. Allergy*, 34, 1968, S. 297-302

- 89) Doenhoff, R. J. and Davies, A. J. S.: Reconstitution of the T-cell pool after irradiation of mice. Cellular immunology, 2, 1971, S. 82-90
- 90) Dvorak, H. F.: Role of the Basophilic Leucocyte in Allograft Rejections. J. Immunol., 106, 1971, S. 279-281
- 91) Dvorak, H. F.; Dvorak, A. M., Simpson, B. A., Richardson, H. B., Leskowitz, S. and Karnovsky, M. J.: Cutaneous Basophil Hypersensitivity, II. A Light and Electron mikroskopie Description. J. exp. Med., 134, 1971, S. 559-562
- 92) Dvorak, H. F. and Hirsch, M.: Role of basophilic leucocytes in cellular immunity to vaccinia virus infection, J. Immunol.: im Druck
- 93) Dvorak, H. F. and Mihm, M. C.: Basophil Leucocytes in allergic contact dermatitis. J. exp. Med., 135, 1972, S. 235-254
- 94) Dvorak, H. F., Simpson, B. A., Bast, R. C. and Leskowitz, S.: Cutaneous basophil hypersensitivity. III. Participation of the Basophil in Hypersensitivity to Antigen-Antibody-Complexes. Delayed Hypersensitivity and Contact Allergy. Passive Transfer. J. Immunol., 107, 1971, S. 136-146
- 95) Dvorak, H. F., Simpson, B. A., Flax, H. F. and Leskowitz, S.: The fate of antigen in delayed hypersensitivity skin reactions. J. of Immunol., 104, 1970, S. 716-727
- 96) Dumonde, D. C.: The role of the macrophage in delayed hypersensitivity. Brit. med. Bull., 23, 1967, S. 9-14
- 97) Dumonde, D. C. and Path, M. C.: The role of the macrophage in delayed hypersensitivity. Brit. med. Bull., 1967, S. 9-14
- 98) Dumonde, D. C., Wolstencroft, R. A., Penayi, G. S., Matthew, M., Morely, J. and Howson, W. T.: Lymphokines. Non antibody mediators of cellular immunity by lymphocyte activation. Nature (Lond.), 224, 1969, s. 38-42
- 99) Edelman, R. and Wheelock, E. F.: Vesicular Stomatitis Virus Replication in Human Leucocyte Culture: Enhancement by Phytohemagglutinin. Science, 154, 1966, S. 1053-1055
- 100) Ehrenreich, B. B. and Cohn, Z. A.: The uptake and digestion of inordinated human serum albumin by macrophages, J. exp. Med., 126, 1967/II, S. 941-958

- 101) Ehrenreich, B. B. and Cohn, Z. A.: The fate of peptides pinocytosed by macrophages in vitro. J. exp. Med., 129, 1969/I, S. 227-243
- 102) Ehrlich, W. E.: Die Leukozyten und ihre Entstehung. Erg. Pathol., 19, 1934, S. 1-144
- 103) Ehrlich, W. E.: Die Entzündung. In Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. VII/1. Springer Verlag, 1956, S. 119-210
- 104) Ehrlich, W. E.: Morphologie und Physiologie der Antikörperbildung. Verh. dtsh. Ges. Path., 46, 1962 S. 10-48
- 105) Engels, A., Maurer, W. und Niklas, A.: Einige Versuche zur Thoriumresorption im reticuloendothelialen System. T. exp. Med., 115, 1949, S. 221-228
- 106) Ess, H. und Friederici, L.: Zur Problematik der sog. "EFS-Blockade" mit Trypanblau. Zschr. f. d. ges. exp. Med., 129, 1957, S. 264-265
- 107) Everett, N. B., Caffrey, G. W. and Hieke, W. O.: Recirculation of lymphocytes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 113, 1964, S. 867-869
- 108) Everett, N. B. and Tyler, K. W.: Radioautographic studies of reticular and lymphoid cells in germinal centers of lymph nodes. In: Germinal centers in immune responses (eds.: H. Cottier, N. Odar-shenko, R. Shindler and C. C. Cogdon), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, S. 145-151
- 109) Fabro, S., Smith, R. L., Williams, R. T.: Thalidomide as a possible biological acylating agent. Nature (Lond.), 208, 1965, S. 1206-1209
- 110) Faigle, J. W., Weberle, H., Weiss, W., Schmid, K.: The metabolic fate of thalidomide. Experimentia (Basel) 18, 1962, S. 389-397
- 111) Falk, R. E., Collste, L. and Möller, G.: In vitro detection of transplantation immunity: the inhibition of migration of immune spleen cells and peripheral blood leucocytes by specific antigen. J. immunol., 104, 1970, S. 1267-1292
- 112) Falk, R. E., Falk, J. A., Möller, E. and Möller, G.: Lymphocyte-activating Factors Released in vitro by Sensitized and Nonsensitized Human Lymphocytes. Cell. Immunol., 1, 1970, S. 150-161

- 113) Fauve, R. M. and Dekaris, D.: Macrophage Spreading: Inhibition in delayed hypersensitivity. *Science*, 160, 1968, S. 795-796
- 114) Federlin, K., Renold, A. E. and Pfeiffer, E. F. (1968) *Immunol. Int. Symp.* 5th, 1967, S. 107, *Zit. n. Bloom*, 1971
- 115) Feldman, J. D.: The role of proliferation in delayed hypersensitivity. *J. Immunol.*, 101, 1968, S. 563-571
- 116) Feldman, J. D. and Lee, S.: Renal homotransplantation in rats. *J. exp. Med.*, 126, 1967, S. 783-795
- 117) Feldman, J. D. and Najarian, J. S. : Dynamics and quantitative analysis of passively transfer tuberculin hypersensitivity. *J. immunol.*, 91, 1963, S. 306-312
- 118) Feldman, J. D. and Umanue, E. R.: Role of macrophages in delayed hypersensitivity. II. Effects of anti-macrophage antibody. *Cell. Immunol.*, 2, 1971, S. 275-282
- 119) Finkel, A. and Dent, P.: Abnormalities in lymphocyte proliferation in classical and atypical measles infection. *Cell. Immunol.*, 6, 1973, 41-46
- 120) Fireman, P., Friday, G. and Kunate, J.: Effects of measles vaccine on immunologic responsiveness. *Pediatrics*, 43, 1969, 618-623
- 121) Fischer, H., Ax, W., Freund-Fölbart, E., Holub, K., Krüsmann, W. E. and Rathes, K. L.: Studies on phagocytic cells of the omentum. In : *Conf. on mononuclear phagocytes*, Leiden, 1969, Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg., S. 526-547
- 122) Fischer, H. W. und Schmalzl, W.: Über die Hemmbarkeit der Esteraseaktivität in Blutmonozyten durch Natrium-florid. *Klin. Wschr.*, 42, 1964, S. 751
- 123) Fishman, M. and Adler, E. L.: Heterogeneity of macrophage functions in relation to the immune response. *Conf. on mononuclear phagocytes*, Leiden 1969, Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. E. v. Furth) S. 561-594
- 124) Fitzgerald, P. H.: The immunological role and long life span of small lymphocytes. *J. Theoret. Biol.*, 6, 1964, S. 13-15

- 125) Fliedner, T. H., Hass, R. J., Stble, H. and Adams, A.: Complete labeling of all cell nuclei in newborn rats with 3-H-thymidin. A tool for the evaluation of rapidly and slowly proliferating cell system. *Lab. Invest.*, 16, 1968, S. 249-259
- 126) Floersheim, G. L.: *Transplantationsbiologie*, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1971, S. 5-31
- 127) Fong, J., Chin, D. and Ellberg, S. S.: Studies on tubercle bacillus-histiocyte relationship. V. Passive transfer of cellular resistance. *J. exp. Med.*, 115, 1962, S. 475-489
- 128) Fong, J., Chin, D. and Ellberg, S. S.: Studies on tubercle bacillus-histiocyte relationship. VI. Induction of cellular resistance by ribosomes and ribosomal RNA. *J. exp. Med.*, 118, 1963, S. 371-386
- 129) Forbes, I. J. and Mackaness, G. B.: Mitosis in macrophages. *Lancet* ii, 1963, S. 1203-1204
- 130) Fresen, O.: Die Pathomorphologie des Retothelialen Systems. *Verh. dt. Ges. Path.*, 37, 1953, S. 26-85
- 131) Fresen, O.: Das retotheliale System. *Dtsch. med. Wschr.* 85, 1960, S. 2009-2016
- 132) Fresen, O.: The concept and importance of the R. E. S. considered from a morphological aspect. In: *Reticulo-endothelial Structure and function* (ed. J. M. Heller) The Ronald Press Company, 1960, S. 3-22
- 133) Fresen O.: Studies on the RES with Isotopes. *Klin. Wschr.*, 45, 1967, S. 277-281
- 134) Frey, J. B., Jenk, P.: Experimental studies on the pathogenesis of contact eczeme in the guinea-pig. *Int. Arch. Allergy*, 11, 1957, S. 81-100
- 135) Friedman, H. and Sabet, T. Y.: Effects of RES-blockade on antibody-formation. III. Proliferative Capacity of antigen-reactive stem cells in carbon-treated mice after transfer to irradiated recipients. *Immunol.*, 10, 1970 S. 338-395
- 136) Fukase, M.: Studies on the cells responsible for the delayed type of hypersensitivity with special reference to lymphocytes. *J. exp. Med.*, 89, 1966, S. 349-362
- 137) Furth, R. v.: The origin and turnover of promonocytes, monocytes and macrophages in normal mice. In: *Conf. on mononuclear phagocytes*, Leiden 1969, Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg., S. 151-165

- 138) Furth, R. v.: and Cohn, F. A.: The origin and connects of mononuclear phagocytes. J. exp. Med., 126, 1966, S. 415-435
- 139) Furth, R. v. and Diesselhoff-Den Dulk, M. M. C.: The connects of promonocytes and monocytes in the bone marrow. J. exp. Med., 132, 1970, S. 813-826
- 140) Gabrieli, E. H. and Campani, M.: The effect of Heticulo-Endothelial Blockade on Dermal spreading of India Ink. Experientia (Basel), VIII, 1952, S. 19-20
- 141) Gallily, H. and Gornostansky, M.: Specificity and nature of binding of antimacrophage serum. Immunol, 22, 1972 S. 431-439
- 142) Gell, P., Benecerraf, B.: Delayed hypersensitivity reactions to conjugated and denaturated antigens. In: Immunopathologie, 1. Int. Symp., hrsg. v. P. Grabar, P. Miescher. Schwabe, Basel 1959, S. 207
- 143) Gell, P. H. and Hinde, I. T.: The histiology of the tuberculin reaction and its modification by cortison. Brit. J. exp. Path., 32, 1951, S. 516-521
- 144) George, M. and Vaughn, J. H.: In vitro Cell Migration as a Model for Delayed Hypersensitivity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 1962, S. 514-521
- 145) Gillissen, G.: La définition serologique des anticorps sessiles par rapport a la réaction tuberculinique. Rev. Immunol., 27, 1963, S. 43-70
- 146) Gillissen, G.: Mycobacteriaceae. In: Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. (ed. H. Hephloh und H.-J. Otte). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1968, S.373-393
- 147) Globerson, A. and Feldman, M.: Macrophages and the bicellular Mechanism of antibody response. Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 513-524
- 148) Goldstein, G.: Die Thymushormone. Triangel 11, 1972, S. 7-14
- 149) Golob, E. K., Israsena, T., Guatrole, A. C. and Becker, K.L.: Effect of serum from Cancer patients on homologous lymphocyte Cultures. Cancer 23, 1969, S. 306-308
- 150) Gowans, J. L.: Life-Span, Recirculation and Transformation on Lymphocytes. Int. Rec. Exp. Pathol. 5, 1966, S. 1-24

- 151) Gowans, J. L. and Knight, E. J.: The route of recirculation of lymphocytes in the rat. Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B 159, 1964, S. 257-262
- 152) Gowans, J. L. and Mc. Gregor, D. D.: The immunological activities of lymphocytes. Progr. Allergy 9, 1965, S. 1-78
- 153) Gowans, J. L., Mc. Gregor, D. D., Cowen, D. M. and Ford, C. D.: Initiation of immune responses by small lymphocytes, Nature (Lond.) 196, 1962, S. 48-54
- 154) Graffi, A. und Krischke, W.: Experimentelle Grundlagen der Geschwulstforschung. In : E. Goetze: Pathologische Physiologie, G. Fischer-Verlag, Jena, 1964, S. 163
- 155) Granger, G. A., In: Mediators of cellular Immunity (eds. H. S. Lawrence and M. Landy), Acad. Press., New York 1970, S. 321. Zit. n. Bloom, 1971
- 156) Granger, G. A.: Methodes for study of mediators. In: In vitro methods in cell mediated immunity. (eds. B. H. Bloom and P. Glade). Acad. Press, New York, 1971, S. 36
- 157) Granger, G. A. and Kolb, W. P.: Lymphocyte in vitro cytotoxicity: mechanism of immune and non-immune small lymphocyte mediated target cell destruction. J. Immunol. 101, 1968, S. 111-120
- 158) Granger, G. A., Shacks, S. J., Williams, T. W. and Kolb, W. P.: Lymphocyte in vitro Cytotoxicity: Specific Release of Lymphotoxin like Materials from Tuberculin-sensitive Lymphoid Cells. Nature (Lond.) 221, 1969, S. 1155-1157
- 159) Granger, G. A. and Williams, T. W.: Lymphocyte Cytotoxicity in vitro: Activation and Release of a Cytotoxic Factor. Nature (Lond.) 218, 1968, S. 1253-1254
- 160) Greaves, M. F.: Biological Effects of Anti-Immunglobulins: Evidence for Immunglobulin. receptors on "T" and "B" - Lymphocytes. Transplant. Rev. 5, 1970, S. 45-76
- 161) Greaves, M. F. and Möller, E. In: Development aspects of antibody formation (ed. J. Sterze) Acad. Press, New York, 1970, S. 627, Zit. n. Bloom, 1971
- 162) Greaves, M. F. and Möller, E.: Studies of antigen-binding Cells. I. The origin of reactive cells. Cellular Immunol. 1, 1970, S. 372-385
- 163) Greaves, M. F., Möller, E. and Möller, G.: Studies on antigen-binding cells. II. Relationship to antigen-sensitive Cells. Cellular Immunol., 1, 1970, S. 386-403

- 164) Green, J. H., Badger, J., Rutstein, A., Kibrick, B. and Cooperband, S. R.: Inhibition of Target Cell Proliferation by Supernatants from cultures of human peripheral lymphocytes. J. Immunol. 105, 1970, S. 48-54
- 165) Grob, P. J., Beäker, F. und Schulz, K. H.: Immunfunktion und Transfer-Faktor. Dtsch. Med. wscr. 98, 1973, S. 446-451
- 166) Günther, O.: Die funktionelle Bedeutung des Retikulo-endothelialen Systems. Dtsch. med. wscr. 3, 1971, S. 129-130
- 167) Hamilton, L. D. and Chase, M. W.: Labeled cells in the cellular transfer of delayed hypersensitivity. Fed. Proc., Fed. Amer. Soc. Exp. Biol. 21, 1962, S. 40
- 168) Hammerl, H. und Millesi, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Blockade des RES. Winer Zschr. f. Inn. Med. 35, 1954, S. 133-136
- 169) Hanke, H.: Experimentelle Untersuchungen biologischer Abwehrvorgänge bei Thoriumdioxidspeicherung des Retikuloendothels. Z. f. ges. exp. Med. 85, 1932, S. 653-673
- 170) Harvey, S. B., Simon, M. D. and Shalgren, J. N.: cellular immunity in vitro. I. Immunologically mediated enhancement of macrophage bactericidal Capacity. J. exp. Med. 133, 1971, S. 1377-1389
- 171) Havemann, K. and Schmidt, M.: Lymphocyte culture in Hodgkins disease: indications of two lymphocyte populations with different reactions to PHA. Klin. wscr. 46, 1968, S. 31-33
- 172) Heas, W., Noltenius, W. und Tan, L.: Untersuchungen zur Aufnahme von löslichen Proteinen durch immunisierte Zellen in vitro. Verh. dtsh. Ges. Path. 54, Tagung 1970, S. 253-256.
- 173) Heilmen, D. M. and Mc. Farland, W.: Inhibition of tuberculin-induced mitogenesis in cultures of lymphocytes from tuberculous donors. Int. Arch. Allergy 30, 1966, S. 58-66
- 174) Heise, E. R. and Weiser, E. S.: Factors in delayed Sensitivity: Lymphocyte and macrophage cytotoxins in the Tuberculin Reaction. J. Immunol. 103, 1969, S. 570-576
- 175) Heise, E. R. and Weiser, E. S.: Tuberculin Sensitivity: The effect of antilymphocyte and antimacrophage serum on cutaneous, systemic and in vitro reaction. J. Immunol. 104, 1970, S. 704-709

- 176) Heise, E. R. and Weiser, R. S.: Tuberculin hypersensitivity: The action of ALS und AMS on the cutaneous, systemic and in vitro reaction. The J. of Immunol. 104, 1970^b, S. 704-717
- 177) Hellmann, K., Duke, D. F. and Tuckor, D. F.: Prolongation of skin homograft survival by thalidomide. Brit. med. j. 1965/II, S. 687-689
- 178) Hellström, K. E. und Hellström, I.: Einige Aspekte der zellulären und der humoralen Immunreaktion auf Tumorentigene. Triangel 11, 1972, S. 23-28
- 179) Herrath, E. v.: Die Morphologie des Retikuloendothelialen Systems. Verh. dt. Ges. Path. 37, 1953, S. 13-25
- 180) Hess, M. W.: Lymphatischer Apparat, insbesondere Thymus, in der Pathogenese der Defektimmunopathien. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Band 7/III, Springer Verlag, 1970, S. 182-236
- 181) Hill, W. C.: The Influence of the cellular infiltrate on the Evolution and Intensity of Delayed Hypersensitivity Reactions. J. exp. Med. 129, 1969, S. 363-370
- 182) Hilschmann, N.: Die molekularen Grundlagen der Antikörperbildung. Naturwissenschaften 56, 1969, S. 195-204
- 183) Hirsch, J. G.: Structure and ultra-structure of mononuclear phagocytes. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969, Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg., S. 1-6
- 184) Hirsch, J. G. and Fedorko, M. E.: Morphology of mouse mononuclear phagocytes. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg., S. 7-18
- 185) Hjort, T., Beutner, E. H. and Witebsky, E.: Uptake of labeled antigens by lymphocytes of rabbits with delayed hypersensitivity reaction. Int. Arch. Allergy 33, 1968, S. 337-352
- 186) Howard, J. G.: The origin and immunological significance of Kupffer cells. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ. Oxf. and Edinbg., S. 178-199
- 187) Howard, J. G., Hunt, S. V. and Gowans, J. L.: Identification of marrow derived and thymus derived small lymphocytes in the lymphoid tissue and thoracic duct lymph of normal rats. J. exp. Med. 135, 1972, S. 200-219

- 188) Humphrey, J. H. In: Developmental aspects of antibody formation, (ed. J. Sterze). Acad. Press, New York, 1970 S. 585
- 189) Humphrey, J. H. und White, R. G.: Kurzes Lehrbuch der Immunologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971, S. 53-93, 330-364
- 190) Isacovic, K., Smith, S. B. and Waksman, B. H.: The role of the thymus in tolerance. I. Tolerance to bovine gammaglobulin in thymectomized, irradiated rats grafted with thymus from tolerant donors. J. exp. Med. 122, 1965, S. 1103-1123
- 191) Izumi, T. and Vostello, R.: Temporal development of resistance to pulmonary tuberculosis in swiss albino mice. J. exp. Med. 133, 1971, S. 376-388
- 192) Jerne, N. K., Nordin, A. A.: Plaque Formation in Agar by Single Antibody-Producing cells. Science 140, 1963, S. 405
- 193) Jiminez, L., Bloom, B. R., Blume, M. R. and Öttgen, H. F.: On the number and nature of antigen-sensitive lymphocytes in the blood of delayed hypersensitive human donors. J. exp. Med. 134, 1971, S. 741-751
- 194) Jondal, M., Holm, G. and Wigzell, G.: Surface markers on human T and B-Lymphocytes, I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells. J. exp. Med., 130, 1972, S. 207-215
- 195) Jones, V. E. and Leskowitz, S.: Immunochemical study of antigenic Specificity in delayed hypersensitivity. IV. The production of unresponsiveness to delayed hypersensitivity with a single antigenic determinant. J. exp. Med., 122, 1965, S. 505-515
- 196) Jürgensen, W.: The inflammatory exudate in delayed type hypersensitivity. Biochem. Pharmacol. 1968, Suppl. March, S. 87-98
- 197) Kay, W. and Rieke, W.O.: Tuberculin Hypersensitivity: Studies with Radioactive Antigen and Mononuclear Cells Science, 139, 1963, S. 487-489
- 198) Kirkpatrick, G. H.? Chandler, S. W. and Schimke, R. N.: Chronic mucocutaneous moniliasis with impaired delayed hypersensitivity. Clin. exp. Immunol. 6, 1970, S. 375-335
- 199) Klein, E. und Klein, G.: Tumorantigene und ihre mögliche Anwendung in Forschung, Tumorthherapie und Tumorphylaxe. Triangel 11, 1972, S. 15-22

- 200) Kölsch, E.: Patterns of handling and presenting antigen by macrophages. Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 548-561
- 201) Kölsch, E. and Mitchison, N. A.: The subcellular distribution of antigens in macrophages. J. exp. Med. 128/II, 1968, S. 1059-1079
- 202) Kolb, W. P. and Granger, G. A.: Lymphocyte in vitro Cytotoxicity: Characterization of Mouse Lymphotoxin. Cell. Immunol., 1, 1970, S. 122-132
- 203) Kolin, A., Pekarek, J. and Johanovsky, J.: Histological manifestations of the cellular (delayed) hypersensitivity. IV. Comparison of the histological pattern of skin inflammation of Various etiology. Z. Immunol. Forschg. 135, 1968, S. 188-202
- 204) Korting, G. W. und Tadzer, J. G.: Über Zusammenhänge zwischen dem Funktionszustand des Reticulo-endothelialen Systems und künstlich erzeugter Kälteagglutination. Wiener klin. Wschr., 1951, S. 741-743
- 205) Koster, F. T. and Mc. Gregor, D. D.: The Mediator of Cellular immunity. III. Lymphocyte traffic from the blood into the inflamed peitoneal Carvity. J. exp. Med. 133, 1971, S. 846-876
- 206) Koster, F. T., Mc. Gregor, D. D. and Mackaness, M. B.: The mediator of cellular immunity. II. Migration of immunologically committed lymphocytes into inflammation exudates. J. exp. Med. 133, 1971, S. 400-409
- 207) Kosunen, T. U. and Dvorak, H. F.: The transfer reaction in the rabbit. II. A radioautographic study. Lab. Invest. 12, 1963, S. 628-634
- 208) Kosunen, T. U., Waksman, B. H., Flax, M. H. and Tihen, W. S.: Radioautographic Study of Cellular Mechanism in Delayed Hypersensitivity. I. Delayed reactions to tuberculin and purified proteins in the rat and Guinea pig. Immunology 6, 1963, S. 276-290
- 209) Koszewski, B. J., Emerick, C. W. and Dicus, D. H.: Studies of phagocytic yctivity of lymphocytes. III. Phagocytosis of intravenous india ink in human subjects. Blood 12, 1957, S. 559-566
- 210) Krejci, J., Pekarek, J., Johanovsky, J. and Svejcar, J.: Demonstration of the inflammatory activity of the supernatant of hypersensitive lymphnode cells incubated with a high dose of antigen. Immunol. 16, 1969, S. 677-684

- 211) Kretschmer, R., August, C. S., Rosen, F. S. and Janeway, C. A.: Recurrent infections, episodic lymphopenia and impaired cellular immunity. Further observations on "immunologic amnesia" in two siblings. New Engl. J. Med. 281, 1969, S285-289
- 212) Kupers, T. A., Petrick, J. M., Holloway, A. W., St. Geme, J. W.: Depression of tuberculin delayed hypersensitivity by live attenuated mumps virus. J. Pediat. 76, 1970, S. 716-728
- 213) Kurth, R. and Bauer, H.: Cell-surface antigens induced by avian RNA tumor viruses: Detection by a cytotoxic microassay. Virology 47, 1972, S. 426-433
- 214) Lamelin, J. P.: Inhibition of Macrophage Migration. In: Cell-Mediated Immunity. In vitro Correlates. (ed. J. P. Revillard), Karger, Basel 1971, S. 75-102
- 215) Langevoort et al: The Nomenclature of mononuclear Phagocytic Cells. Proposal for a new classification. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969, Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 1-6
- 216) Lawrence, H. S. and Landy, M.: Mediators of Cellular immunity S. 221 (Academic Press, New York, 1970)
- 217) Leder, L. D.: Der Blutmonozyt. Morphologie - Herkunft - Funktion und prospektive Potenz - Monozyten-Leukämie Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1967, S. 1-293
- 218) Leder, L. D.: The Origin of Blood Monocytes and Macrophages. Blut, 16, 1966, S. 86-96
- 219) Leder, L. D.: Fermentzytochemische Untersuchungen zur Herkunft des Blutmonozyten. Klin. Wschr. 44, 1966, S. 25-30
- 220) Leiters, S. und Riabow, A.: Zur Frage der "Blockade" des reticuloendothelialen Systems und dessen funktioneller Prüfung. Z. exp. Med. 56, 1928, S. 314-319
- 221) Letterer, E.: Histologische und experimentelle Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Funktionsprüfungen des RES. Zschr. f. d. ges. exp. Med., 93, 1934, S. 103-109
- 222) Letterer, E.: Allgemeine Pathologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969, S. 54-79

- 223) Levence, G. M., Turk, J. L., Wright, D. J.M. and Grimble, A. G. S.: Reduced lymphocyte transformation due to a plasma factor in patients with active syphilis. *Lancet* ii, 1969, 246-247
- 224) Lindner, J.: Experimentelle Untersuchungen über Stoffaufnahmen und Stoffumformung in reticulären Zellen unter besonderen Bedingungen. 39. Tagung, dtsh. Ges. Path. 1955, S. 354-373
- 225) Loewi, G.: Experimental Immune Inflammation in the Synovial Membrane. II. The origin and local activity of inflammatory cells. *Immunology* 17, 1969, S. 489-498.
- 226) Lolekha, S., Dray, S. and Gotoff, S. P.: Macrophage aggregation in vitro: a correlate of delayed hypersensitivity. *J. Immunol.* 104, 1970, S. 296-304
- 227) Lonai, P. and Feldman, M.: Studies on the effect of macrophages in an in vitro graft reaction system. *Immunol.* 21, 1971, S. 861-867
- 228) Lubaroff, D. M. and Waksman, B. H.: Delayed hypersensitivity: Bone marrow as the source of cells in delayed skin reactions. *Science* 157, 1967, S. 322-323
- 229) Lubaroff, D. M. and Waksman, B. H.: Bone marrow as source of cells in reaction of cellular hypersensitivity. I. Passive transfer of tuberculin sensitivity in syngeneis systems. *J. exp. Med.*, 128, 1968.a, S. 1425-1435
- 230) Lubaroff, D. M. and Waksman, B. H.: Bone marrow as source of cells in reaction of cellular hypersensitivity. II. Identification of allogeneis of hybrid cells by immunofluorescence in passively transferred tuberculin reactions. *J. exp. Med.* 128, 1968b, S. 1437-1449
- 231) Ljunggren, G., Colste, L. and Möller, G.: Cytotoxicity of Human Lymphocytes Antagonism between Inducing processes. *Nature (Lond.)* 220, 1968, S. 289-291
- 232) Mackaness, G. B.: The immunological basis of acquired cellular immunity. *J. exp. Med.* 120, 1964, S. 105-120
- 233) Mackaness, G. B.: The influence of immunologically committed lymphoid cells on macrophage activity in vivo. *J. exp. Med.* 128, 1968, S. 973-993

- 234) Mackaness, G. B.: The monocyte in delayed-type hypersensitivity. Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden, 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 478-485
- 235) Mackaness, G. B.: Cellular immunity. Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 461-477
- 236) Maini, R. W., Bryceson, A. D. M., Wolstencroft, R. A. and Dumonde, D. C.: Lymphocyte mitogenic factor in man. Nature (Lond.) 224, 1969, S. 43-44
- 237) Makela, O.: Analogies between Lamphocyte receptors and resulting humoral antibodies. Transplant. Rev. 5, 1970, S. 3-18
- 238) Makela, O. and Mitchison, N. A.: The role of Cell number and source in adoptive immunity. Immunol. 8, 1965, S. 539-548
- 239) Manzini, A, Menini, A.: Atti I. Conf. Soc. Ital. Anet. Path. 1949, 100. Zit. n. Ess und Friderici, 1957
- 240) Marcus, Z. H.: Macrophage inhibition at the onset of tuberculin sensitivity. Fed. Proc. 29, 1970, S. 305
- 241) Marmor, N. F. and Barnet, E. Y.: Cutaneous allergy without systematic disease: a syndrome associated with mucocutaneous fungal infection. Amer. J. Med. 44, 1968, S. 979-989
- 242) Marshall, W. H., Valentine, F. T. and Lawrence, H. S.: Cellular immunity in vitro. J. exp. Med. 130, 1969, S. 327-343
- 243) Martins, A.B., Moore, W. D., Dickinson, J. B. and Raffel, S.: Cellular activizes in hypersensitive reactions. III. Specifically Reactive Cells in Delayed Hypersensitivity: Tuberculin Hypersensitivity. J. Immunol. 93, 1964, S. 953-959
- 244) Masshof, W.: Die Morphologie der Immunitätsreaktion. Dtsch. Med. Wschr. 94, 1969, S. 554-559
- 245) Mc. Cluscey, R. T., Benecerraf, B., Mc. Cluscey, J. W.: Studies on the specifity of the cellular infiltrate in delayed hypersensitivity reactions. J. Immunol. 90, 1963, S. 466-477
- 246) Mc. Gregor, D. D. and Coster, P. T.: The mediator of cellular immunity. IV. Cooperation between lymphocytes and mononuclear phagocytes. Cell. Immunol. 2, 1971, S. 317-325

- 247) Mc. Gregor, D. D., Coster, F. T. and Mackaness, G. B.: The mediator of the cellular immunity. I. The life-span and circulation dynamics of the immunologically committed lymphocytes. J. exp. Med. 131, 1969, S. 389-399
- 248) Mc. Gregor, D. D., Coster, F. T. and Mackaness, G. B.: The mediator of the cellular immunity. II. Migration of immunologically committed lymphocytes into inflammation exudates. J. exp. Med. 133, 1971, S. 400-409
- 248) Mc. Gregor, D. D., Hahn, H. H. and Mackaness, G. B.: The mediator of cellular immunity. V. Development of cellular resistance to infection in thymectomized irradiated rats. Cell Immunol. 6, 1973, 186-199
- 249) Mc. Ivor, K. L. and Weiser, R. S.: Mechanism of target cell destruction by alloimmune peritoneal macrophages. II. Release of a specific cytotoxin from interacting cells. Immunol. 20, 1971a, S. 315-322
- 250) Mc. Ivor, K. L. and Weiser, R. S.: Mechanism of target cell destruction by alloimmune peritoneal macrophages. I. The effect of treatment with sodium fluoride. Immunol. 20, 1971b, S. 307-314
- 251) Medawar, P. B.: The Croonian Lecture. The homograft reaction. Proc. roy. Soc. B 149, 1958, S. 145-165
- 252) Medenica, M. and Rostenberg, A. : A comparative light and electron microscopic study of primary irritant contact dermatitis and allergy contact dermatitis. J. Invest. Dermatol. 56, 1971, S. 259-271
- 253) Meiss, L., Romieu, Cl. and Ferrou, B.: Immunotherapie des Krebses. Dtsch. Med. Wschr. 23, 1973, S. 1179-1185
- 254) Neuwissen, H. J., Stutman, O. and Good, R. A.: Function of the Lymphocytes. Sem. Hematol. 6, 1969, S. 28-66
- 255) Miller, J. F. A. P., Marshall, A. H. E. and White, R. G.: The Immunological Significance of the Thymus. Adv. Immunol. Bd. 2, 1962, S. 111-162
- 256) Miller, J. F. A. P., Osoba, D.: Current Concepts of the immunological function of the thymus. Phys. Rev. 47, 1967, S. 437-520
- 257) Moller, G.: Induction of DNA-Synthesis in normal human lymphocyte cultures by antigen-antibody complexes. Clin. exp. Immunol. 4, 1969, S. 4-13
- 258) Montgomery, J. ., South, A. A., Sloan, T. ., Gent, I. . and Good, R. A.: Viral inhibitions of lymphocyte response to PHA. Science 157, 1967, 1066-1070

- 259) Mooney, J. J. and Waksman, B. H.: Activation of normal rabbit macrophage monolayers by supernatants of antigen-stimulated lymphocytes. *J. Immunol.* 105, 1970, S. 1138-1145
- 260) Morris, B.: The lymphatic system and the immune response. *Aust. f. Sci.* 31, 1968, S. 13-18
- 261) Moss, M. L.: Vital staining of newly formed areas of compact bone with chlorazol fast pink. *Stein. Technol.* 29, 1954, S. 247-251
- 262) Mottironi, V. D. and Terasaki, P. I.: Lymphocytotoxins in disease. I. Infections mononucleosis, rubella and measles. In: *Histocompatibility testing*. S. 301-308 (Munksgaard, Copenhagen, 1970)
- 263) Najarian, J. and Feldman, J.: Passive transfer of tuberculin sensitivity by tritiated thymidine-labeled lymphoid cells. *J. exp. Med.* 114, 1961, S. 779-789
- 264) Najarian, J. and Feldman, J. D.: Passive transfer of Transplantation immunity. *J. exp. Med.* 115, 1962, S. 1083-1093
- 265) Najarian, J. and Feldman, J.: Observations on the passive transfer of transplantation immunity and delayed hypersensitivity with lymphoid cells in millipore chambers. *Transplantation* 1, 1963, S. 495-503
- 266) North, R. J.: Cellular kinetics associated with the development of acquired cellular resistance. *J. exp. Med.* 130, 1969 a, S. 299-314
- 267) North, R. J.: The mitotic potential of fixed phagocytes in the liver as revealed during the development of cellular immunity. *J. exp. Med.* 130, 1969 b, S. 315-328
- 268) North, R. J.: The relative importance of blood monocytes and fixed macrophages to the expression of cell mediated immunity to infection. *J. exp. Med.* 132/2 1970, S. 521-534
- 269) North, R. J.: The relative importance of blood monocytes and fixed macrophages to the expression of cell mediated immunity to infection. *J. exp. Med.* 134, 1971 a, S. 521- 533
- 270) North, R. J.: Suppression of cell-mediated immunity to infection by an antimitotic drug. Further evidence that migrant macrophages express immunity. *J. exp. Med.* 134, 1971 b, S. 533-545

- 271) Nossal, G. J. v.: Die Regulation der Immunantwort. Klin. Wschr. 47, 1969, S. 568-573
- 272) Nossal, G. J. v. : Schicksal und Persistenz der Antigene und die Auslösung des Immungeschehens, Triangel 11, 1972, S. 1-7
- 273) Nossal, G. J. v.; Abbot, A. and Mitchell, J.: Antigens in immunity. XIV. Electron microscopy radioautographic studies of antigen-capture in the lymph node medulla. J. exp. Med. 127, 1968, S. 263-276
- 274) Nossal, G. J. v., Ada, G. L., Austin, C. M. and Pye, J.: Antigens in immunity. VIII. Localization of 125-I-labeled antigens in the secondary response. Immunol. 9, 1965, S. 349-357
- 275) Nossal, G. J. v., Austin, M. and Austin, C. M.: Antigens in immunity. XIII. The antigen content of single antibody-forming cells early in primary and secondary immune responses, Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 45, 1967, S. 581-594
- 276) Nossal, G. J. v., Mitchell, J. and Himmus, Z.: Antigens in immunity. XV. Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. J. exp. med. 127, 1968, S. 277-290
- 277) Nossal, G. J. v., Werner, N. L., Lewis, H. and Sprent, J.: Quantitative features of a sandwich radioimmuno-labeling technique for lymphocyte surface receptors. J. exp. Med. 135, 1972, S. 405-428
- 278) O'Grady, F. and Path, M. C.: Tuberculin reaction in tuberculosis. Brit. med. Bull. 23, 1967, S. 76-79
- 279) Olson, G. B., South, P. A. and Wood, L. A.: PHA unresponsiveness of lymphocytes from babies with congenital rubella. Nature (Lond.) 214, 1967, S. 695-696
- 280) Owen, J. M. T.: Antigenesis of immunological systems. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 7/III, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1970, S. 129-173
- 281) Palmer, C. G., Livergood, D., Warren, A. K., Simpson, P. J. and Johnson, J. S.: The action of vinblastin on mitosis in vitro. Exp. cell. res. 20, 1960, S. 198-201

- 262) Papacharalampos, N. C.: Befunde am retothelialen System der Ratte nach kurzfristigen Versuchen mit intra-peritonealen Injektionen von Trypanblau. Beitr. Path. Anat. 114, 1954, S. 248-295
- 263) Peltier, A. P. and Kourilsky, M.: Etude de la fixation d'antigène protéique par les cellules ganglionnaires de cobayes en état d'hypersensibilité retardée pure. Ann. de L'Inst. Pasteur, Paris. 110, 1966, S. 813- 83
- 264) Perey, D. Y., Cooper, M. D. and Good, R. A.: Normal second set homograft rejection in agammaglobulinemic chickens. Transplantation 5, 1967, S. 615-623
- 265) Perkins, W. H.: Digestion of antigen by peritoneal macrophages. Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinb. (ed. R. v. Furth), S. 562-580
- 266) Perlmann, P. and Holm, J.: Cytotoxic effects of lymphoid cells in vitro. Advan. Immunol. 11, 1964, S. 117-193
- 267) Peterson, R. D. A., Cooper, M. D. and Good, R. A.: Lymphoid Tissue Abnormalities Associated with Ataxia Teleangiectasia. Amer. J. Med. 41, 1966, S. 342-359
- 268) Pfeifer, U.: Probleme der cellulären Autophagie. Morphologische, enzymocytochemische und quantitative Untersuchungen an normalen und alternierten Leber-epithelien des atter. In: Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungs-geschichte, Bd. 44, Heft 4, Springer Verlag, 1971, S. 51-67
- 269) Pick, E., Brostoff, J., Krejci, J. and Turk, J. L.: Interaction between "sensitized lymphocytes" and antigen in vitro. II. Mitogen-induced release of skin reactive and macrophage migration inhibitory factors. Cellular. Immunol. 1, 197 , S. 92-100
- 290) Pick, E., Krejci, J. Cech, K. and Turk, J. L.: Interaction between "sensitized lymphocytes" and antigen in vitro. I. The release of a skin reactive factor. Immunol. 17, 1969, S. 741-747
- 291) Pick, E., Krejci, J. and Turk, J. L.: Interaction between "sensitized lymphocytes" and antigen invitro. III. Release of soluble mediators by particulate antigen. Immunol. 22, 1972, S. 25-37
- 292) Pick, E. and Turk, J. L.: Interaction between "sensitized lymphocytes" and antigen in vitro. IV. studies on the mechanism of release of skin reactive and macrophage migration inhibitory factors. Immunol. 22, 1972, S. 39-48

- 293) Pincus, J. B.: Formation of Cytotoxic factor by macrophages from Normal Guinea pig. J. Reticuloendothel. Soc. 4, 1967, S. 122-139
- 294) Pincus, J. B., Woods, W. J. and Pang, R. K.: Immune-Specific Cytotoxic Factor Formation by small Lymphocytes. J. Reticuloendothel. Soc. 7, 1970, S. 220-237
- 295) Prendergast, R. A.: Cellular specificity in the homograft reaction. J. exp. med. 119, 1964, S. 377-388
- 296) Raff, H. C.: Theta Isoantigen as a Marker of Thymus-derived Lymphocytes in mice. Nature (Lond.) 224, 1969, S. 378-379
- 297) Raffel, S.: The Relationship of Acquired Resistance Allergy, Antibodies and Tissue Reactivities to the Components of the Tubercle Bacillus. Amer. Rev. Tuberc. 54, 1946, S. 564-573
- 298) Raffel, S.: The components of the Tubercle Bacillus responsible for the delayed Type of Infection Allergy. J. Infect. Dis. 82, 1948, S. 267-273
- 299) Raffel, S.: Chemical Factors Involved in the Induction of Infection Allergy. Experientia (Basel) 6, 1950, S. 410-419
- 300) Raffel, S., Assileneau, J., Lederer, E.: The chemical nature of the lipoidal factor of the tubercle bacillus responsible for the induction of tuberculous hypersensitivity. Ciba. Found. Symp. Experimental Tuberculosis Churchill, London 1955, S. 174-197
- 301) Reif, A. E. and Allen, J. M. V.: The thymic antigen and its distribution in leukemias and nervous tissues. J. exp. med. 120, 1964, S. 413-433
- 302) Remold, H. G., Katz, A. S., Haber, E. and David, J. R.: Studies on migration Inhibitory Factor (MIF): Recovery of MIF Activity After Purification by gel Filtration and Disc Electrophoresis. Cell. Immunol. 1, 1970, S. 133-145
- 303) Revillard, J. P.: Potential and actual clinical applications of in vitro tests for cell-mediated immunity. In vitro correlates, S. 154-201 S. Karger, Basel, 1971
- 304) Ricci, M., Romagnani, S., Passaleva, A. and Biliotti, G.: Lymphocyte transformation and macrophage migration in Guinea pigs immunized with Freund's complete adjuvant. Clin. exp. Immunol. 5, 1969, S. 659-667

- 305) Richardson, H. B.: Cutaneous basophil (Jones Mote) Hypersensitivity after "tolerogenic" doses of intravenous ovalbumin in the Guinea pig. J. exp. Med. 134, 1971, S. 630-641
- 306) Richardson, H. B., Dvorak, H. F. and Leskowitz, S.: Basophilic hypersensitivity: a new interpretation of Jones-Mote-Reaction. J. of Immunol. 103, 1969, S. 1431-1434
- 307) Richardson, H. B., Dvorak, H. F. and Leskowitz, S.: Cutaneous basophil hypersensitivity. I. A new look at the Jones-Mote-Reaction, general characteristics. J. exp. Med. 134, 1971, S. 546-557
- 308) Rocklin, R. E., Meyers, O. L. and David, J. R.: An in vitro assay for cellular hypersensitivity in man. J. Immunol. 104, 1970, S. 95-102
- 309) Rohr, K.: Das reticulohistiocytäre System (RHS) und seine Erkrankungen vom klinischen Standpunkt. Verh. dtsh. ges. Path. 37, 1953, S. 127-141
- 310) Roos, B.: Makrophagen: Herkunft, Entwicklung, Funktion. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 7/III, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1970, S. 1- 104
- 311) Roos, B., Nolsberger, B., Hess, M., Stoner, R. D. and Cottier, H.: Nicht publizierte Befunde, 1967. Zit. n. Roos, B. Makrophagen: Herkunft, Entwicklung, Funktion. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Bd. 7/III, Springer Verlag 1970, S. 26-29
- 312) Roos, B. Odartschenko, N., Hess, M., Stoner, R. D. and Cottier, H.: Zur Kinetik reticuloendothelialer und histiocytärer Zellen in Lymphknoten von Mäusen nach Sekundärstimulation mit Tetanustoxis: Autoradiographische Untersuchungen mit Hilfe von 3-H-Thymidin. Résumé des Communications, Xe Congr. Soc. Europ. Hémat, Strasbourg, 1965, S. 113, Zit. n. Roos, 1970
- 313) Rosser, B.: The migration of macrophages in vivo. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth) S. 166-174
- 314) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H.: Cytotoxic Effect of Lymphocyte-Antigen Interaction in Delayed Hypersensitivity. Science 157, 1967, S. 1060-1061

- 315) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H.: Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. I. Characterization of the phenomenon. J. exp. Med. 128, 1968 a, S. 1237-1254
- 316) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H.: Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. II. Correlation of the in vitro response with skin reactivity. J. exp. Med. 128, 1968 b, S. 1255-1265
- 317) Ruddle, N. H. and Waksman, B. H.: Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity. III. Analysis of mechanism. J. exp. Med. 128, 1968 c, S. 1267-1279
- 318) Rubin, A. D.: The in vitro demonstration of fundamental abnormalitis in lymphocytes from patients with lymphoproliferative disorders in: W. O. Rieke Proc. 3rd Annual Leucocyte culture Conference, S. 725-730 (Appleton Centura Crofts) New York, 1969
- 319) Rubin, A. D., Havemann, K. and Damesteck, W.: Studies in chronic lymphatic leucämia: further studies of the proliferative abnormality of the blood lymphocyte. Blood 33, 1969, S. 313-328
- 320) Rüttiman, A.: Lymphsystem. In: W. Siegenthaler: Klinische Pathophysiologie, 2. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1973, S. 646-652
- 321) Sabet, T. Y. and Friedman, H.: Immunology "Anmesia" of antibody forming cells after RES-Blockade. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 131, 1969, S. 1317-1322
- 322) Sabet, T. Y. and Friedman, H.: Effects of RES-Blockade of antibody formation. II. Cytocinetics of the secondary haemolysin response and suoressed immunological "memory" in mice treated with Carbon particles. Immunol. 17, 1969, S. 335-350
- 323) Sabet, T. Y. and Friedman, H.: Effects of RES-Blockade on antibody formation. I. Suppressed cellular and humoral haemolysin responses in mice injected with carbon particles. Immunol. 22, 1969, S. 433-446
- 324) Salvin, S. B.: Occurence of delayed hypersensitivity during the development of Arthus type hypersensitivity. J. exp. Med. 107, 1958, S. 109-124
- 325) Salvin, S. B., Nishio, J. and Bribik, M.: Lymphoid cells in delayed hypersensitivity. I. In vitro in vivo responses. Cell. Immunol. 1, 1970, S. 62-77

- 326) Salvin, S. B. and Smith, R. F.: Delayed Hypersensitivity in the development of circulating antibody. The effect of X-irradiation. J. exp. med. 109, 1959, S. 325-336
- 327) Salvin, S. B. and Smith, R. F.: Delayed hypersensitivity and the anamnestic response. J. Immunol. 84, 1960, S. 449-457
- 328) Schallock, G.: Die experimentellen Retikulosen. Verh. Dtsch. Ges. Path. 37, 1953, S. 86-105
- 329) Schlossberger, H.: Retikuloendothel und Chemotherapie Zbl. Bakter. 110/I, 1929, S. 210-219
- 330) Schlossman, S. F. and Levine, H.: Immunochemical studies on delayed and arthus-type hypersensitivity reaction. I. The relationship between antigenic determinant size and antibody combining size. J. Immunol. 96, 1967, S. 211-219
- 331) Schmährl, D.: Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner Tumoren. Editio Cantor KG, 1970, S. 120-122
- 332) Schmalzl, F. und Braunsteiner, H.: Zytochemische Darstellung von Esteraseaktivitäten in Blut- und Knochenmarkszellen. Klin. Wschr. 46, 1968, S. 624
- 333) Schmalzl, F. and Braunsteiner, H.: Cytochemistry of monocytes and macrophages, In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. A. V. Furth), S. 62-66
- 334) Seibert, R. Amer. Rev. Tuberc. 21, 1930, S. 370. Zit. n. Steffen, 1968
- 335) Seybold, G. und Kallee: Farbstoffbindungsstudien Mitochondrien. I. Z. f. Naturforschung 9 B, 1954, S. 173-174
- 336) Shinji Ohbuchi: Suppression of antibody formation by the reticuloendothelial (RES)-blockade. I. Effects of the RES-blockade with macromolecular polyvinyl pyrrolidone. Acta. Med. Okayama 22, 1968a, S. 37-49
- 337) Shinji Ohbuchi: Suppression of antibody formation by the RES-blockade. II. Effects of the RES-blockade with radioactive gold colloid. Acta. Med. Okayama 22, 1968b, S. 113-122
- 338) Shinji Ohbuchi: Suppression of antibody formation by the RES-blockade. III. Effects of the RES-blockade with methyl palmitate. Acta. med. Okayama 22, 1968c, S. 137-146

- 339) Shotman, K., Brunner, K. T. and Cerottini, J. C.: Separation of stages in the development of the "T"-cells involved in cell mediated immunity. J. exp. Med. 135, 1972, S. 1375-1391
- 340) Silk, M.: Effect of Plasma from patients with Carcinoma on in vitro lymphocyte transformation. Cancer 20, 1967, S. 2088-2089
- 341) Silverstein, A. M., Prendergast, R. A. and Kraner, E. L.: Homograft Rejection in the Fetal Lamb: The role of circulating Antibody. Science 142, 1963, S. 1172- 1173
- 342) Silverstein, A. M., Prendergast, R. A. and Kraner, E. L.: Fetal response to antigenic stimulus. IV. Rejection of Skin Homografts by the Fetal Lamb. J. exp. Med. 119, 1964, S. 955-964
- 343) Simons, M. J.: Congenital rubella; an immunological paradox? Lancet ii, 1968, S. 1275- 1277
- 344) Simons, M. J., and Fitzgerald, M. G.: Rubella-virus and lymphocytes in culture. Lancet ii, 1966, S. 937-940
- 345) Slonecker, Ch. F., Roos, B., Sordat, B., Hess, M. W. and Cottier, H.: Kinetic studies on peritoneal macrophages and lymphoid cells in mice prolabeled with 3-H-Thymidine. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 233-239
- 346) Smith, E. T., Bauscher, J. H. C. and Adler, N. H.: Studies of an Inhibitor on DNA Synthesis and a Non-specific Mitogen Elaborated by Human Lymphoblasts. Amer. J. Pathol. 60, 1970, S. 495-504
- 347) Smithwick, E. M. and Berkovich, S.: In vitro suppression of the lymphocyte response to tuberculin by live measles virus. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 123, 1966, S. 276-278
- 348) Spector, W. G.: Histology of allergic inflammation. Brit. med. Bull. 23, 1967, S. 35-38
- 349) Spector, W. G. and Ayan, G. B.: The mononuclear phagocyte in inflammation. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969, Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth), S. 219-232
- 350) Spector, W. G., Walter, M. N. and Willoughby, D. A.: The origin of the mononuclear cells in inflammatory exudates induced by fibrinogen J. Path. Bact. 90, 1965, S. 181-190

- 351) Spector, W. G. and Willoughby, D. A.: The origin of mononuclear cells in chronic inflammation and Tuberculin reactions in the rat. *J. Path. Bact.* 96, 1966, S. 369-402
- 352) Sonozaki, J. and Cohen, D.: The macrophage disappearance reaction: Mediation by a soluble lymphocyte derived factor. *Cell. Immunol.* 2, 334-352 1971
- 353) Stavv, L., Cohen, I. R. and Feldman, M.: The effect of hydrocortisone on lymphocyte mediated cytotoxicity. *Cell. Immunol.* 7, 1973, S. 302-312
- 354) Stecher, W. J.: Synthesis of proteins by mononuclear phagocytes. In: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. V. Murrh), S. 133-143
- 355) Steffen, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966, S. 39-410
- 356) Steffen, C. and Mosak, M.: In vitro demonstration of anti-ovalbumin specificity of lymph node cells in delayed type hypersensitivity. *J. Immunol.* 90, 1963, S. 337-347
- 357) Stockinger, G.: Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung tierischer Zellen. In: Protoplasmatologie, Handbuch der Protoplasmaforschung, Band II. Cytoplasma 1.1. Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung tierischer Zellen, Wien, Springer-Verlag 1964, S. 4-72
- 358) Stroder, J., Burns, J. D.: The role of lymphocytes in the sensitization of rats to renal homografts. *J. exp. Med.* 122, 1965, S. 347-355
- 359) Sulitzeanu, D.: Affinity of Antigen for white cells and its relation to the induction of Antibody formation. *Bact. Rev.* 32, 1966, 404-424
- 360) Svejcar, J., Pekarek, J. and Johannovsky, J.: Tissue culture studies on the mechanism of delayed type hypersensitivity. *Acta Immunitatisforsch., Allerg. und clin. Immunol.* 13, 1969, S. 342-354
- 361) Svejcar, J., Pekarek, J. and Johannovsky, J.: Studies on the mechanism of delayed type hypersensitivity in tissue cultures. *Z. Immun.-forsch.* 141, 1971, S. 119-128
- 362) Tessenow, H.: Mitochondrien. In: Molekulare Biologie der Zelle. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969, S. 45.

- 363) Thor, D. E., Jureziz, R. E., Veach, S. H., Miller, E. and Dray, S.: Cell migration inhibition factor released by antigen form human peripheral lymphocytes. *Nature (Lond.)* 219, 1968, S. 755-757
- 364) Turk, J. L.: Some quantitative aspects of the uptake of antigens in vitro by the lymphocytes of hypersensitive Guinea pigs. *Int. Arch. Allergy, Appl. Immunol.* 17, 1960, S. 338-351
- 365) Turk, J. L.: The Passive Transfer of Delayed Hypersensitivity in Guinea pigs by the Tranfusion of Isotopically- Labeled Lymphoid Cells. *Immunol.* 5, 1962, S. 403-406
- 366) Turk, J. L., Hellmann, K. and Duke, J. J.: Effect of thalidomide on the immunological response in local lymph nodes after a skin homograft. *Lancet* 1966/I, S. 1134-1136
- 367) Turk, J. L. and Oort, J.: A histological study of the early stages of the development of the tuberculin-reaction after passive transfer of cells labeled with 3-H-Thymidin. *Immunol.* 6, 1963, S. 140-147
- 368) Turk, J. L. and Oort, J.: The production of sensitized cells in cell-mediated immunity. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie, Band 7/III*, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New-York 1970, S. 392-431
- 369) Turk, J. L. and Polak, L.: Studies on the Origin and Reactive Ability in vivo of Peritoneal Exsudate Cells in Delayed Hypersensitivity. *Int. Arch. Allergy* 31, 1967, S. 403-416
- 370) Turk, J. L., Rudner, E. J. and Heatheer, C. J.: A histochemical analysis of mononuclear cell infiltrates of the skin. II. Delayed hypersensitivity in the human. *Int. Arch. Allergy* 30, 1966, S. 248-256
- 371) Turk, J. L. Stone, S. H.: Implications of the cellular changes in lymph nodes during the development and inhibition of delayed type hypersensitivity. In: *Cell-bound Antibodies* (eds. B. Amos and H. Koprowski), Philadelphia, Winter Inst. Press 1963, S. 51-60
- 372) Turk, J. L. and Oort, J.: Germinal center activity in relation to delayed hypersensitivity. In: *Germinal centers in immune response* (ed. H. Cottier, H. Odart-schenko, R. Schindler and C. C. Congdon) Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1969, S. 311-315

- 373) Turk, J. L. and Willoughby, D. A.: An Analysis of the multiplicity of the Effects of Antilymphocyte Serum. An comparison with the Action of other immunosuppressive agents in the cell-mediated immune response and non specific inflammation. In: Antibiotica et Chemotherapia, Bd. 15, 1969, S. 267-295, S. Karger Verlag Basel
- 374) Uhr, J. W., Salvin, S. B. and Peppenheimer, A. M.: Delayed Hypersensitivity. II. Induction of Hypersensitivity in Guinea pigs by Means of Antigen-Antibody Complexes. J. exp. Med. 105, 1957, S. 11-24
- 375) Uhr, J. W. and Scharff, M.: Delayed Hypersensitivity. V. The effect of X-Irradiation on the Development of Delayed Hypersensitivity and Antibody Formation. J. exp. Med. 112, 1960, S. 65-76
- 376) Uhr, J. W. and Philipps, J. M.: In vitro sensitization of phagocytes and lymphocytes by antigen-antibody complexes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 129, 1966, S. 793-1004
- 377) Vaillier, D., Donner, M., Vaillier, J. and Burg, C.: Release of lymphotoxins by spleen cells sensitized against mouse tumor associated antigens. Cell. Immunol. 6, 1973, S. 466-472
- *)
- 378) Valentine, F. T.: Transformation and Proliferation of lymphocytes in vitro. In: Cell-Mediated Immunity. In vitro Correlates. S. Karger Verlag, 1971, S. 7-42
- 379) Valentine, F. T. and Lawrence, H. S.: Lymphocyte stimulation: Transfer of cellular hypersensitivity to antigen in vitro. Science 165, 1969, S. 1014-1016
- 380) Virolainen, M. Hematopoietic origin of macrophages as studied by chromosome markers in mice. J. exp. Med. 127, 1968, S. 943-952
- 381) Volkman, A. and Collins, F. M.: Recovery of delayed type hypersensitivity in mice following suppressive doses of X-Irradiation. The J. of. Immunol. 101, 1968 S. 846-860
- 382) Volkman, A. and Gowans, J. L.: The production of macrophages in the rat. Brit. J. exp. Pathol. 46, 1965 a, S. 50-61
- 383) Volkman, A. and Gowans, J. L.: The origin of macrophages from bone-marrow in the rat. Brit. J. exp. Pathol. 46, 1965 b, S. 62-70
- *) Valdimarsson, H. et al: Immune Abnormalities Associated with Chronic Mucocutaneous Candidiasis. Cell Immunol. 6, 1973, S. 348-361

- 384) Wahlström, T., Saksela, E. and Troupp, H.: Cell bound antiglial immunity in patients with malignant tumors of the brain. *Cell. Immunol.* 6, 1973, S. 161-170
- 385) Waksman, B. H.: Animal investigation in autosensitization: nervous system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 124, 1965, S. 299-309
- 386) Waksman, B. H., Arbouys, S., Arnason, B. G.: The use of specific "lymphocyte" antisera to inhibit hypersensitive relations of the delayed type. *J. exp. Med.* 114, 1961, S. 997-1022
- 387) Ward, P. A., Remold, H. G. and David, J. R.: Leucotactic Factor Produced by Sensitized Lymphocytes. *Science* 163, 1969, S. 1079-1081
- 388) Ward, P. A., Remold, H. G. and David, J. R.: The Production by Antigen-Stimulated Lymphocytes of a Leucotactic Factor distinct from Migration Inhibitory Factor. *Cell. Immunol.* 1, 1970, S. 162-174
- 389) Warner, N. L. and Szenberg, A. : In: *The Thymus in Immunology* (eds. R. A. Good and A. E. Gabrielson) Harper New York 1964, S. 395
- 390) Weiner, J. Lattes, R. G. and Spiro, D.: An electron microscopy study of leucocyte emigration and vascular permeability in tuberculin sensitivity. *Amer. J. Pathol.* 50, 1967, S. 485-521
- 391) White, R. G. and Gordon, J.: Macrophage reception and recognition mechanism in the chicken spleen. In: *Conf. on mononuclear phagocytes*, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth) S. 510-527
- 392) Wigzell, H.: Specific Fractionation of immunocompetent cells. *Transplant. Rev.* 5, 1970, S. 76-105
- 393) Willems, F. T., Melnick, J. L. and Rawls, W. E.: Viral inhibition of the phytohemagglutinin response of human lymphocytes and application to viral hepatitis. *Proc. Soc. exp. Biol. N. Y.* 130, 1969, S. 652-661
- 394) Williams, R. M. and Waksman, B. H.: Thymus-derived cells in the early phase of delayed tuberculin reaction. *J. Immunol.* 103, 1969, S. 1435-1438
- 395) Williams, T. W. and Granger, G. A.: Lymphocyte in vitro Cytotoxicity: mechanism of lymphotoxin-induced target cell destruction. *J. Immunol.* 102, 1969, S. 911-918

- 396) Williams, T.W. and Granger, G.A.: Lymphocyte in vitro Cytotoxicity: Lymphotoxins of several Mammalian Species, Nature (Lond.) 219, 1968, S. 1076-1077
- 397) Wiener, J., Spiro, D. and Zunker, H.O.: A cellular study of tuberculin sensitivity. Amer.J.Path. 47, 1965, S. 733-763
- 398) Wisse, E. and Daems, W.Th.: Fine structural study on the sinusoidal lining cells of rat livers. IN: Conf. on mononuclear phagocytes, Leiden 1969. Blackwell scient. publ., Oxf. and Edinbg. (ed. R. v. Furth) S. 200-210
- 399) Witten, T.A., Wang, W.L. and Kilian, M.: Reaction of Lymphocytes with Purified Protein Derivate Conjugated with Fluorescein. Science 142, 1963, S. 596-598
- 400) Wolstencroft, R.A.: Lymphocyte Mitogenic Factor in Relation to Mediators of cellular Immunity. IN: Cell-Mediated Immunity. In vitro Correlates. S. Karper Basel (ed. J.P. Revillard) 1971, S. 130-155
- 401) Wolstencroft, R.A. and Dumonde, D.C.: In vitro studies of cell mediated immunity. Immunol. 18, 1970, S. 599-610
- 402) Yoshida, T., Benecerraf, V., Mc. Cluscey, R. and Vasellem P.: The effect of intravenous antigen on circulating monocytes in animals with delayed hypersensitivity. The J. of Immunol. 102, 1969, S. 804-811
- 403) Yoshida, T. and Reisfeld, R.: Two Fractions with Macrophage Migration Inhibitory Activity from sensitized Lymphocyte Cultures. Nature (Lond.) 226, 1970, S. 856 - 857
- 404) Youdim, S., Stutman, O. and Good, R.A.: Studies of delayed hypersensitivity to monocytoenes in mice: Nature of cells involved in passive transfers. Cell. Immunol. 6, 1973, 98-109
- 405) Zeithofer, J. und Speiser, P.: Hämangiohistiomatose beim Kaninchen nach experimenteller Thorotrastverabreichung. Z. Krebsforsch. 60, 1954, S. 161-168

Es ist mir eine angenehme Pflicht,
Frau Prof. Dr. I. Falck für ihr
Verständnis und für ihr Entgegen-
kommen bei der Bearbeitung des
Themas herzlich zu danken.

L e b e n s l a u f .

Am 17.1.1937 wurde ich als erster Sohn des Bauingenieurs Hermann Rohr und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Lachmann, in Thyrow, Kreis Zossen geboren.

Im Herbst des Jahres 1946 wurde ich in die Grundschule zu Thyrow eingeschult. Im Jahre 1946 Umzug nach Berlin-West. Hier erfolgte meine Aufnahme in die Klasse 3 der 13. Grundschule, die ich bis einschließlich Klasse 6 besuchte.

1953 erfolgte meine Umschulung in die Klasse 7 der III. Oberschule des wissenschaftlichen Zweiges (Johannes Kepler Schule) in Berlin-Neukölln, an der ich am 31.3.1959 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1959 habe ich mit dem Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin begonnen. An der gleichen Hochschule bestand ich am 2.5.1960 das Vorphysikum, am 10.11.1961 das Physikum und am 14.6.1966 das medizinische Staatsexamen.

Die Medizinalassistentenzeit leistete ich vom 1.8.1966 bis zum 15.1.1969 in Berlin ab.

Vom 1.4.1969 bis zum 30.6.1969 war ich Assistenzarzt an der inneren Abteilung des Theodosius Krankenhauses in Berlin-Lankwitz.

Vom 1.9.1969 bis zum 30.6.1972 war ich als Assistenzarzt am Landesmedizinaluntersuchungsamt Berlin tätig. Vom 1.7.1972 bis zum 30.6.1973 bildete ich mich am klinisch-chemischen Zentrallaboratorium des Klinikums Westend der Freien Universität Berlin weiter. Seit dem 1.7.1973 gehöre ich der Hämatologisch-onkologischen Abteilung des Klinikums Westend an, um dort den letzten Weiterbildungsabschnitt zum Facharzt für Laboratoriumsdiagnostik abzuleisten. Meine Weiterbildung zum Facharzt für Laboratoriumsdiagnostik steht kurz vor ihrem Abschluß.

